



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ  
ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
« ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ »

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ  
« ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΓΗΡΑΝΣΗ ΔΕΡΜΑΤΟΣ »

ΗΛΕΚΤΡΑ Κ. ΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΟΥ  
ΙΑΤΡΟΣ  
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ 2015-2016  
ΠΜΣ «ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ  
**ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ (Επιβλέπουσα)**  
Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Θεσσαλίας  
**ΤΡΑΧΑΝΑ ΒΑΡΒΑΡΑ (Μέλος)**  
Επίκουρη Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Θεσσαλίας  
**ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ (Μέλος)**  
Επίκουρος Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΛΑΡΙΣΑ, 2016



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ  
ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
« ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ »

«STEM CELLS AND SKIN AGING»

*Στους πολυαγαπημένους μου,  
Κατερίνα, Κώστα, Ειρήνη, Αλέξανδρο,  
Τερέζα, Θεοδόση, Βιβιάννα, Δαμιανό,  
Χάρη  
και στους αγαπημένους τους.*

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το δέρμα αποτελεί το μεγαλύτερο όργανο του ανθρώπινου σώματος, κι όπως όλα τα όργανα και οι ιστοί, υπόκειται στις εκφυλιστικές διαδικασίες της γήρανσης. Παρόλο, που η γήρανση του δέρματος γοητεύει τους ερευνητές εδώ και δεκαετίες, βρισκόμαστε μακριά από την ακριβή κατανόηση των μηχανισμών της. Σήμερα πλέον, γνωρίζουμε ότι η γήρανση του δέρματος περιλαμβάνει δύο διακριτές διαδικασίες: α) την ενδογενή/χρονολογική γήρανση, που αφορά κυρίως την κυτταρική γήρανση και β) την εξωγενή/ περιβαλλοντική γήρανση ή φωτογήρανση, που οφείλεται σε περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η ηλιακή ακτινοβολία. Τα παραπάνω φαινόμενα απειλούν τη ομοιότητα του δέρματος, η οποία κύρια διατηρείται από τη δράση των βλαστοκυττάρων του δέρματος. Η μείωση του αριθμού των βλαστοκυττάρων του δέρματος ή/και η απώλεια της λειτουργίας τους οδηγεί στην απώλεια της ομοιότητας και άρα της γήρανσης του δέρματος.

Στο δέρμα έχουμε πολλούς πληθυσμούς βλαστοκυττάρων, με κυριότερους τα βλαστοκύτταρα: α) της επιδερμίδας, β) της περιοχής bulge των τριχοθυλακίων και γ) των σμηγματογόνων αδένων. Τα συγκεκριμένα βλαστοκύτταρα συμβάλλουν μέσω διαφόρων μηχανισμών στη δημιουργία/αναγέννηση των διαφορετικών κυτταρικών σειρών του δέρματος, για τη διασφάλιση της ομοιότητάς του αλλά και την αναδόμησή του στις περιπτώσεις τραυματισμού. Η παύση της κυτταρικής ανάπτυξης, η γήρανση και η απόπτωση, οδηγούν στην προοδευτική μείωση του αριθμού και η δυσλειτουργία των πληθυσμών των βλαστοκυττάρων του δέρματος («εξάντληση των βλαστοκυττάρων») συμβάλλοντας στη διαδικασία της γήρανσής του. Οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην εξάντληση των βλαστοκυττάρων είναι: α) η βράχυνση τελομερών/απώλεια τελομεράσης, β) αλλαγές στο μικροπεριβάλλον των βλαστοκυττάρων, για παράδειγμα αναφέρονται οι αλλαγές ορμονών, γ) το οξειδωτικό stress-ROS, δ) άλλοι μοριακοί παράγοντες. Επισημαίνεται ότι σήμερα υπάρχουν διάφορες παρεμβάσεις, που φαίνονται να «απαλύνουν» το φαινότυπο της γήρανσης του δέρματος, στις οποίες περιλαμβάνονται η ενεργοποίηση της τελομεράσης, η χρήση φαρμακολογικών και μη φαρμακολογικών παραγόντων και οι θεραπείες με βλαστοκύτταρα και ουσίες που παράγονται από αυτά.

## **ABSTRACT**

The skin is the body's largest organ, and like all organs and tissues, is being subjected to the degenerative processes of aging. Although skin aging fascinates researchers for decades, we are far from the understanding of its exact mechanisms. We now know that skin aging includes two distinct phenomena: a) the intrinsic/chronologic aging that mainly involves the cellular senescence and b) the extrinsic/ environmental aging or photoaging due to environmental factors, such as ultraviolet (UV) irradiation. These phenomena threaten skin homeostasis which is mainly maintained by the action of skin stem cells. The reduction of the of stem cells of the skin and/or loss of their function leads to loss of homeostasis and therefore skin aging.

Skin consists of various kinds of stem cells, the most important of which, are: a) epidermal stem cells, b) bulge stem cells and c) sebocyte stem cells. These specific stem cells contribute, through various mechanisms, to maintain normal homeostasis and wound repair in the skin. Growth arrest, senescence or apoptotic death, contribute to dysfunction of skin stem cells and progressive decline in stem cell number which could lead to skin aging. Mechanisms related to skin's stem cell exhaustion are a) telomere shortening/loss of telomerase, b) changes in their specialized microenvironment, for example hormone alterations, c) oxidative stress-ROS and d) other molecular factors. Nowadays there are interventions for alleviating skin aging such as telomerase activation, the use of pharmacological and non pharmacological agents and stem cell-based therapies.

# **ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ**

<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>	4
<b>ABSTRACT</b>	5
<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	8
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: <u>ΤΟ ΔΕΡΜΑ</u></b>	10
<b>1.1 Ανατομία δέρματος</b>	10
➤ Επιδερμίδα	11
➤ Χοριοεπιδερμидική σύνδεση	14
➤ Χόριο	14
➤ Υπόδερμα	15
➤ Εξαρτήματα δέρματος	16
➤ Αγγεία και νεύρα	20
<b>1.2. Λειτουργίες δέρματος</b>	21
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: <u>Η ΓΗΡΑΝΣΗ</u></b>	26
<b>2.1 Μελέτη της γήρανσης σε επιστημονικό επίπεδο</b>	26
➤ <i>In vivo</i> γήρανση	26
➤ <i>In vitro</i> γήρανση	27
<b>2.2 Γήρανση δέρματος</b>	28
➤ Η ενδογενής/χρονολογική γήρανση του δέρματος	29
➤ Η εξωγενής/περιβαλλοντική γήρανση ή φωτογήρανση	31
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: <u>ΤΑ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ</u></b>	37
<b>3.1 Βλαστοκύτταρα μεταξύ τριχοθυλακίων της επιδερμίδας</b>	40
➤ Μηχανισμοί αναγέννησης του δέρματος	42
➤ Ανανέωση της επιδερμίδας κατά τη διάρκεια ζωής του ενήλικα	43

➤ Σηματοδότηση κατά τη διαφοροποίηση της επιδερμίδας	47
3.2 Βλαστοκύτταρα της περιοχής bulge των τριχοθυλακίων	57
3.3 Βλαστοκύτταρα των σμηγματογόνων αδένων	64
3.4 Βλαστοκύτταρα υπεύθυνα για την ομοιόσταση των μελανοκυττάρων	67
3.5 Μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα δέρματος	69
<b><u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΤΑ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ Η ΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ</u></b>	70
4.1 Βράχυνση τελομερών, απώλεια βλαστοκυττάρων και γήρανση δέρματος	74
4.2 Οιστρογόνα, βλαστοκύτταρα και γήρανση δέρματος	76
4.3 ROS, βλαστοκύτταρα και γήρανση δέρματος	78
4.4 Η αλληλεπίδραση μεταξύ των παραγόντων που επηρεάζουν τη γήρανση του δέρματος	80
4.5 Άλλοι μοριακοί παράγοντες που επιδρούν στη λειτουργία των βλαστοκυττάρων	81
<b><u>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΟΙ ΤΡΕΧΟΥΣΕΣ ΑΝΤΙΓΗΡΑΝΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ</u></b>	82
5.1 Τροποποιήσεις τελομερών που επεκτείνουν τη διάρκεια ζωής του δέρματος	82
5.2 Θεραπεία υποκατάστασης ορμονών	83
5.3 Διατροφή περιορισμένων θερμίδων και χρήση φαρμακολογικών και μη προϊόντων για επιβράδυνση της γήρανσης του δέρματος	85
5.4 Θεραπευτικές χρήσεις των βλαστοκυττάρων και παραγώγων τους στη γήρανση του δέρματος	90
➤ Μελλοντικές κατευθύνσεις	93
<b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b>	95
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	97

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παρούσα μελέτη αποτελεί βιβλιογραφική ανασκόπηση και ο σκοπός της είναι να αναλυθούν διεξοδικά οι υπάρχουσες γνώσεις:

A) για τα βλαστοκύτταρα του δέρματος,

B) για το ρόλο των βλαστοκυττάρων του δέρματος στη γήρανσή του και

Γ) για τις θεραπευτικές στρατηγικές που μπορούν να καθυστερήσουν την έναρξη ή την εξέλιξη της γήρανσης του δέρματος και των διαταραχών της.

Το δέρμα αποτελεί το μεγαλύτερο όργανο του ανθρωπίνου σώματος καθώς αποτελεί περίπου το 15% του συνολικού σωματικού βάρους και στον ενήλικα η επιφάνειά του έχει έκταση 1.2-2.3 m<sup>2</sup> [Kanitakis 2002, Junqueira et al., 1989]. Αποτελείται από τρεις στιβάδες: α) την επιδερμίδα, β) το χόριο και γ) τον υποδόριο ιστό. Επίσης, φέρει και τα εξαρτήματά του, τα οποία είναι οι αδένες (σημηματογόνοι και ιδρωτοποιοί), οι τρίχες και τα νύχια. Επιπρόσθετα, βρίσκονται σε αυτό, αγγεία και νεύρα. Το δέρμα επιτελεί ποικίλες σημαντικές λειτουργίες και είναι από τα κυριότερα όργανα αλληλεπίδρασης με τον περιβάλλοντα κόσμο [Νικολαΐδου 2006].

Το δέρμα, όπως όλα τα όργανα κι οι ιστοί των οργανισμών, υπόκειται στις εκφυλιστικές διαδικασίες της γήρανσης και αποτελεί το κύριο όργανο στο οποίο είναι ιδιαίτερα εμφανείς οι αλλαγές της [Zouboulis and Boschnakow 2001]. Σήμερα πλέον, αναγνωρίζουμε ότι η γήρανση του δέρματος περιλαμβάνει δύο κλινικά και βιολογικά φαινόμενα: α) την ενδογενή/ χρονολογική γήρανση (intrinsic aging/ chronologic aging) και β) την εξωγενή/ περιβαλλοντική γήρανση/ φωτογήρανση (extrinsic aging/ environmental aging/ photoaging) [Wolff et al. 2012].

Το δέρμα, σε έναν ενήλικα οργανισμό, αποτελείται από μια μεγάλη ποικιλία κυττάρων διαφορετικής εμβρυολογικής προέλευσης. Κατά συνέπεια, πολλοί διαφορετικοί τύποι βλαστοκυττάρων τίθενται σε λειτουργία προκειμένου να αναπληρώσουν την απώλεια αυτών των κυττάρων που επέρχεται είτε κατά τη φυσιολογική διεργασία της ομοιόστασης, είτε κατά τη διαδικασία της επούλωσης του δέρματος [Blanpain et al. 2006]. Οι βασικοί πληθυσμοί των βλαστοκυττάρων του δέρματος είναι: α) τα βλαστοκύτταρα της επιδερμίδας/ μεταξύ των τριχοθυλακίων της επιδερμίδας, β) τα βλαστοκύτταρα της περιοχής bulge των τριχοθυλακίων, γ) τα βλαστοκύτταρα των σημηματογόνων αδένων, δ) τα βλαστοκύτταρα που είναι υπεύθυνα για την ομοιόσταση των μελανοκυττάρων και ε) τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα [Peng et al. 2015].

Τα βλαστοκύτταρα αν και θεωρούνται αθάνατα, με την πάροδο του χρόνου εξαντλούνται και αυτά στον ανθρώπινο οργανισμό [Schultz and Sinclair 2016] και μάλιστα η διαδικασία αυτή αποτελεί ένα από τα ορόσημα της γήρανσης [López-Otín et al. 2013]. Έτσι, η παύση της κυτταρικής ανάπτυξης, η γήρανση, η απόπτωση οδηγούν στην προοδευτική μείωση του αριθμού και τη δυσλειτουργία των βλαστοκυττάρων του δέρματος συμβάλλοντας στη διαδικασία της γήρανσής του. Οι μηχανισμοί που σχετίζονται με την εξάντληση των βλαστοκυττάρων είναι: α) η βράχυνση τελομερών/απώλεια



τελομεράσης, β) αλλαγές στο μικροπεριβάλλον των βλαστοκυττάρων, για παράδειγμα αναφέρονται οι αλλαγές ορμονών, γ) το οξειδωτικό stress-ROS, δ) άλλοι μοριακοί παράγοντες και ε) επιγενετικές αλλαγές [López-Otín et al. 2016, Schultz and Sinclair 2016, López-Otín et al. 2013, Peng et al 2015].

Αναφέρεται ότι σήμερα υπάρχουν διάφορες ελπιδοφόρες παρεμβάσεις, που μπορούν να καθυστερήσουν την έναρξη ή την εξέλιξη της γήρανσης ή ακόμα και να τη «θεραπεύσουν», παραδείγματος χάριν στα σύνδρομα προγηρίας. Σε αυτές περιλαμβάνονται η ενεργοποίηση της τελομεράσης, η χρήση φαρμακολογικών και μη φαρμακολογικών παραγόντων και οι εφαρμογές βλαστοκυττάρων και ουσιών που παράγονται από αυτά. Οι συγκεκριμένες θεραπευτικές παρεμβάσεις έχουν καταδειχθεί σε πειραματόζωα. Υπάρχουν ενδείξεις ότι μπορεί να ισχύουν και για τον άνθρωπο, όμως δεν έχει αποδειχθεί καμία προς το παρόν [López-Otín et al. 2016, Peng et al 2015]. Τέλος, όσον αφορά στις μελλοντικές κατευθύνσεις της θεραπείας της γήρανσης του δέρματος με βλαστοκύτταρα, επισημαίνεται η ex vivo επαναφορά των χαρακτηριστικών της νεότητας των βλαστοκυττάρων ακολουθούμενη από την επανατοποθέτησή τους [Bernet 2014, Cosgrove et al. 2014], αλλά και η πιθανότητα διαγραφής/εκκαθάρισης του δέρματος από τα γερασμένα (senescent cells) ή δυσλειτουργικά βλαστοκύτταρα [Roos et al. 2016, Childs et al. 2015, Chang et al. 2016].

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΤΟ ΔΕΡΜΑ

Το δέρμα αποτελεί το μεγαλύτερο όργανο του ανθρώπινου σώματος καθώς αποτελεί περίπου το 15% του συνολικού σωματικού βάρους και στον ενήλικα η επιφάνειά του έχει έκταση 1.2-2.3 m<sup>2</sup>. Καλύπτει ολόκληρη την εξωτερική επιφάνειά του και στις περιοχές των στομίων του σώματος συνεχίζεται στους βλεννογόνους (π.χ. στόμα, μύτη...) ενώ είναι το κύριο επίπεδο αλληλεπίδρασης με τον περιβάλλοντα κόσμο [Kanitakis 2002, Junqueira et al. 1989].

## 1.1 ΑΝΑΤΟΜΙΑ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Εξετάζοντας το δέρμα από έξω προς τα μέσα, διακρίνουμε σε αυτό τρεις στιβάδες (Εικ. 1.1): α) την επιδερμίδα, β) το χόριο ή κυρίως δέρμα, γ) το υπόδερμα ή υποδόριο ιστό. [Νικολαΐδου 2006]

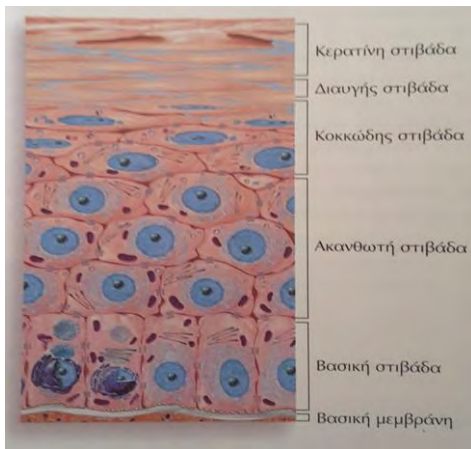


Εικόνα 1.1. Σχηματική απεικόνιση στιβάδων και εξαρτημάτων δέρματος  
[www.slideshare.net].

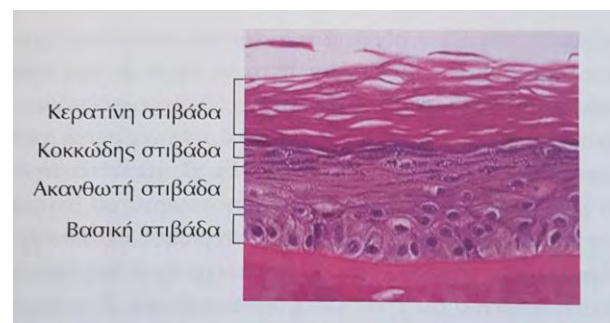
## Επιδερμίδα

Η επιδερμίδα είναι η εξωτερική στιβάδα του δέρματος και αποτελείται από κερατινοποιημένο πολύστιβο πλακώδες επιθήλιο. Εξεταζόμενη από κάτω προς τα πάνω, η επιδερμίδα αποτελείται από τέσσερις στιβάδες κυττάρων (**Εικ. 1.2 και 1.3**):

α) τη βασική ή μητρική στιβάδα, β) την ακανθωτή ή μαλπιγιανή στιβάδα, γ) την κοκκώδη στιβάδα και δ) την κερατίνη στιβάδα. [Νικολαΐδου 2006]



**Εικόνα 1.2. Σχηματική απεικόνιση επιδερμίδας**  
[Νικολαΐδου 2006].



**Εικόνα 1.3. Ιστολογική απεικόνιση επιδερμίδας σε μικροσκόπιο**  
[Νικολαΐδου 2006].

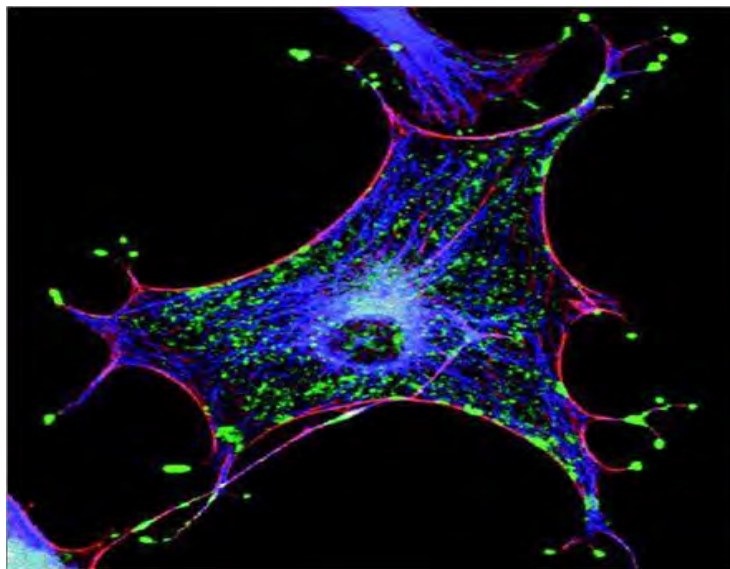
Η επιδερμίδα του ενηλίκου συντίθεται από τρεις βασικούς τύπους κυττάρων (**Εικ. 1.5**):

α) τα κερατινοκύτταρα, β) τα μελανοκύτταρα και γ) τα κύτταρα του Langerhans.

Τα **κερατινοκύτταρα** είναι εξωδερμικής προέλευσης, αποτελούν τον κύριο πληθυσμό κυττάρων της επιδερμίδας και έχουν ως εξειδικευμένη λειτουργία την παραγωγή κερατίνης. Η κερατίνη είναι μια σύνθετη νηματοειδής πρωτεΐνη που σχηματίζει την επιφανειακή στιβάδα της επιδερμίδας (κεράτινη στιβάδα) και επίσης αποτελεί δομική πρωτεΐνη των τριχών και των νυχιών. Έχουν αναγνωριστεί πολλαπλά διακριτά γονίδια κερατίνης, που διακρίνονται σε δύο υποοικογένειες, τα όξινα και τα βασικά. Τα προϊόντα από ένα βασικό και ένα όξινο γονίδιο κερατίνης συνδυάζονται για να σχηματίσουν τις πολλαπλές κερατίνες που βρίσκονται σε διάφορους ιστούς, η παρουσία διάφορων τύπων κερατίνης χρησιμοποιείται ως δείκτης για το είδος και το βαθμό διαφοροποίησης του πληθυσμού των κερατινοκυττάρων. Οι κερατίνες είναι ζωτικής σημασίας για τη φυσιολογική λειτουργία της επιδερμίδας και οι μεταλλάξεις κερατίνης αναγνωρίζονται ως αίτια δερματοπαθειών. Για παράδειγμα μεταλλάξεις στα γονίδια κερατινών 5 και 14 σχετίζονται με την απλή πομφολυγώδη επιδερμόλυση [James et al. 2011]. Τέλος, αξίζει να

αναφερθεί, ότι τα κερατινοκύτταρα συνδέονται μεταξύ τους με δεσμοσωμάτια, ειδικοί σχηματισμοί που απαντώνται μόνο στα επιθηλιακά κύτταρα [Wheater et al. 2002].

Τα **μελανοκύτταρα (Εικ.1.4)** είναι νευρικής προέλευσης και βρίσκονται διασκορπισμένα ανάμεσα στα κύτταρα της βασικής στιβάδας [Kierszenbaum 2007, McGrath et al. 2004]. Η αναλογία των μελανοκυττάρων και των κυττάρων βασικής στιβάδας είναι 1:5. Μετά από χρώση τους, με την τεχνική Dopa, διαπιστώνεται ότι τα μελανοκύτταρα είναι δενδριτικά κύτταρα, οι δενδρίτες των οποίων διακλαδίζονται ανάμεσα στα κερατινοκύτταρα. Υπολογίζεται ότι κάθε μελανοκύτταρο συνδέεται με 36 περίπου κερατινοκύτταρα. Τα μελανοκύτταρα παράγουν μελανίνη, η οποία ενσωματώνεται σε ειδικά κοκκία, τα μελανοσωμάτια. Τα μελανοσωμάτια διασπείρονται κατά μήκος των δενδριτών των μελανοκυττάρων και φαγοκυτταρώνονται από τα κερατινοκύτταρα, τα οποία αποκτούν με αυτόν τον τρόπο μελανίνη. Η μελανίνη προστατεύει από την ηλιακή ακτινοβολία. Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι δρα και κατά των ελευθέρων ριζών, παρέχοντας με αυτόν τον τρόπο έναν επιπρόσθετο μηχανισμό προστασίας κυττάρων. Η μελανίνη καθορίζει σε μεγάλο βαθμό το χρώμα του δέρματος. Τα άτομα της μαύρης φυλής εμφανίζουν περισσότερα και μεγαλύτερα μελανοσωμάτια σε κάθε κερατινοκύτταρο, ενώ ο αριθμός των μελανοκυττάρων είναι ο ίδιος, σε σχέση με τα άτομα της λευκής φυλής. [Νικολαΐδου 2006] Αξίζει να αναφερθεί, ότι σημαντικός παράγοντας στη ρύθμιση της παραγωγής της μελανίνης είναι ο υποδοχέας μελανοκορτίνης -1 (MC1R) [James et al. 2011].



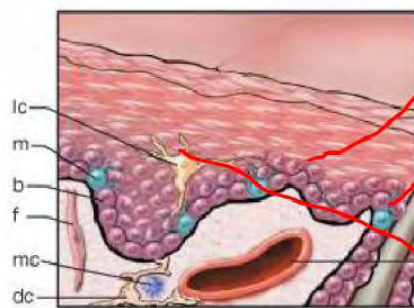
**Εικόνα 1.4. Το μελανοκύτταρο.** Η μεταφορά των μελανοσωμάτων (πράσινο) προς την περιφέρεια του μελανοκυττάρου επιτελείται με τη βοήθεια των μικροσωληνίσκων (μπλε) και του κυτταροσκελετού της ακτίνης (κόκκινο) [Hume et al. 2001].

Τα **κύτταρα του Langerhans** προέρχονται από το μυελό των οστών και βρίσκονται διάσπαρτα ανάμεσα στα κερατινοκύτταρα της ακανθωτής στιβάδας. Αποτελούν το 3% ως το 6% των κυττάρων σε αυτή τη στιβάδα. Είναι δενδριτικά κύτταρα, όπως και τα μελανοκύτταρα [Kanitakis 2002, Junqueira et al. 1989]. Για τη χρώση τους σε ιστολογικές τομές απαιτούνται ειδικές ανοσοϊστοχημικές τεχνικές. Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διακινούνται μέσα στο κυτταρόπλασμα τους τα κοκκία του Birbeck, τα οποία είναι οργανίδια σε σχήμα ρακέτας του τένις και αποτελούν χαρακτηριστικό γνώρισμα των κυττάρων του Langerhans. Τα κύτταρα αυτά, αποτελούν τα αντιγονοπαρουσιαστικά του δέρματος. Μόλις φαγοκυτταρώσουν ένα αντιγόνο μεταναστεύουν στους λεμφαδένες της περιοχής, όπου διεγείρουν τα λεμφοκύτταρα και δίνουν το έναυσμα για την έναρξη της ανοσολογικής απόκρισης του οργανισμού στο συγκεκριμένο αντιγόνο [Νικολαΐδου 2006].

Επιπλέον κύτταρα, τα **κύτταρα του Merkel**, μπορούν να βρεθούν στη βασική στιβάδα στις παλάμες, στα πέλματα, στο βλεννογόνο του στόματος και των γεννητικών οργάνων, στην κοίτη του όνυχα και στο ακροκόλπωμα του τριχικού θυλάκου. Τα κύτταρα του Merkel σχετίζονται με τις ενδοεπιδερμικές νευρικές απολήξεις και εξυπηρετούν την αισθητική λειτουργία του δέρματος για αυτό και είναι άφθονα σε περιοχές μεγάλης ευαισθησίας [James et al. 2011].

Τέλος, αξίζει να αναφέρουμε ότι η επιδερμίδα δεν περιέχει αγγεία αλλά τρέφεται με διαπίδυση από τα αγγεία του χορίου. [Νικολαΐδου 2006].

## Κύτταρα



- **Κερατινοκύτταρα**

παραγωγή κερατίνης

- **Μελανοκύτταρα**

παραγωγή μελανίνης

- **Κύτταρα Langerhans**

παρουσίαση αντιγόνου

- **Κύτταρα Merckel**

λεπτή αφή

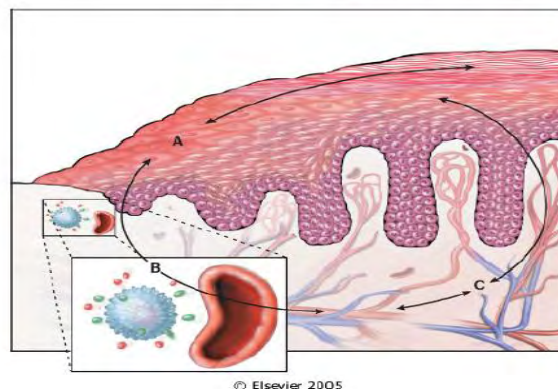
**Εικόνα 1.5 . Κύτταρα της επιδερμίδας και οι βασικές λειτουργίες που επιτελεί το καθένα [www.slideshare.net].**



## Χοριοεπιδερμική σύνδεση

Η σύνδεση της επιδερμίδας και του χορίου πραγματοποιείται μέσω της ζώνης της βασικής μεμβράνης. Η ζώνη της βασικής μεμβράνης θεωρείται ένα πορώδες ημιδιαπερατό φίλτρο, το οποίο επιτρέπει την ανταλλαγή κυττάρων και υγρών μεταξύ επιδερμίδας και χορίου. Ακόμα, χρησιμεύει ως δομική στήριξη της επιδερμίδας, συγκρατεί μεταξύ τους τις δύο αυτές στιβάδες του δέρματος, ενώ εξυπηρετεί τις ίδιες λειτουργίες και στα εξαρτήματα του δέρματος (**Εικ. 1.6**) [James et al. 2011, Blanpain and Fuchs 2009].

### Δυναμική διαντίδραση επιδερμίδας-χορίου



**Εικόνα 1.6.** Διαντίδραση επιδερμίδας – χορίου [www.slideshare.net].

## Χόριο

Το χόριο βρίσκεται ανάμεσα στην επιδερμίδα και το υπόδερμα. Είναι αρκετά παχύτερο από την επιδερμίδα, την οποία τρέφει και υποστηρίζει.

Τα συστατικά του χορίου είναι μεσοδερμικής προέλευσης, εκτός από τα νεύρα, τα οποία όπως τα μελανοκύτταρα, προέρχονται από τη νευρική ακρολοφία. Αποτελείται από κύτταρα, από ίνες (κολλαγόνου και ελαστικές) και από τη θεμέλια ή βασική ουσία (**Εικ. 1.7**). Στο χόριο, επίσης, υπάρχουν αγγεία και νεύρα.

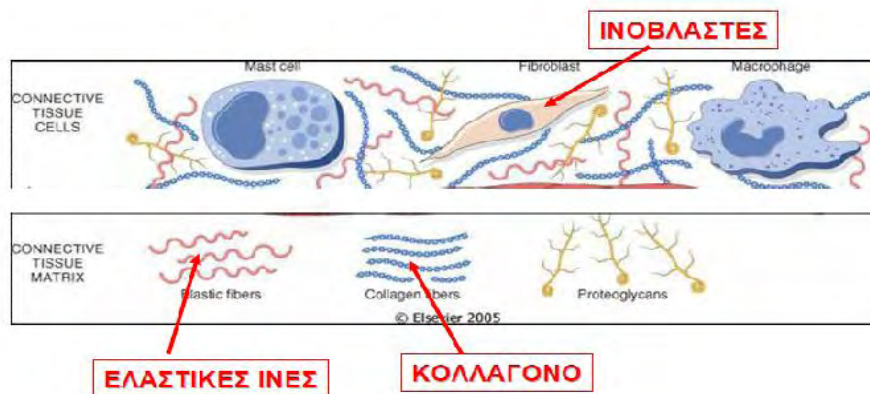
Τα κυριότερα κύτταρα του χορίου είναι οι ινοβλάστες. Από τους ινοβλάστες παράγονται όλες οι ίνες του χορίου και τα περισσότερα από τα συστατικά της θεμέλιας ουσίας. [Wheater et al. 2002]

Το κολλαγόνο αποτελεί το 70% - 80% του βάρους του χορίου, κυρίως τύπου I (το 85% του συνολικού κολλαγόνου) και τύπου III (15% του συνολικού κολλαγόνου), ενώ παρέχει αντοχή σε εφελκυσμό, σε διάτμηση και σε άλλες μηχανικές δυνάμεις.

Οι ελαστικές ίνες αποτελούν το 1% - 3% του βάρους του χορίου και περιέχουν ελαστίνη, που παράγεται όπως και το κολλαγόνο, στους ινοβλάστες. Οι ίνες αυτές παίζουν σημαντικό ρόλο στην αντίσταση σε παραμορφωτικές δυνάμεις καθώς και την επιστροφή του δέρματος στη μορφή που έχει σε κατάσταση ηρεμίας.

Τα κύτταρα και οι ίνες του χορίου βρίσκονται μέσα στη θεμέλια ουσία που αλλιώς ονομάζεται και εξωκυττάριο στρώμα του χορίου (ECM - extracellular matrix). Το κύριο συστατικό της είναι οι βλεννοπολυσακχαρίτες, όπως το υαλουρονικό οξύ. Οι βλεννοπολυσακχαρίτες συνδεόμενοι με πρωτεΐνες σχηματίζουν τις πρωτεογλυκάνες. Στη θεμέλια ουσία βρίσκονται ακόμα νερό, άλατα και γλυκοπρωτεΐνες [Νικολαΐδου 2006].

## ΣΥΝΔΕΤΙΚΟΣ ΙΣΤΟΣ



Εικόνα 1.7. Συστατικά χορίου [www.slideshare.net].

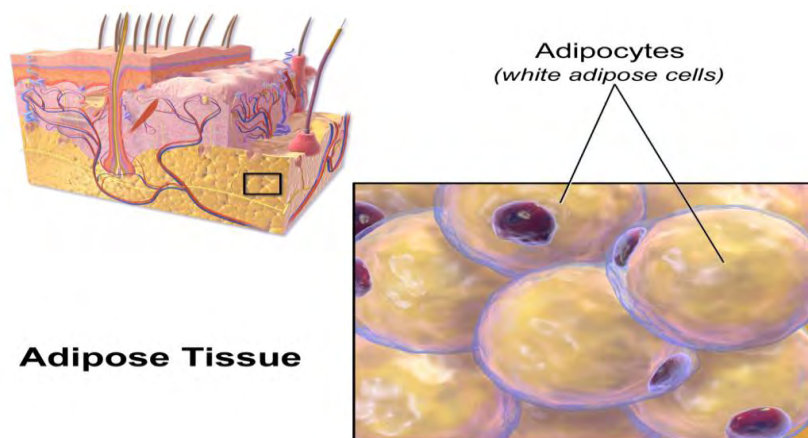
## Υπόδερμα

Κάτω από το χόριο βρίσκεται το υπόδερμα, το οποίο σχηματίζεται από τον υποδόριο λιπώδη ιστό. Το υπόδερμα εκτείνεται μέχρι την περιτονία των υποκείμενων μυών. Το πάχος του κυμαίνεται ευρέως στις διάφορες περιοχές του σώματος και με μέγεθος ανάλογο με τη θρεπτική κατάσταση του κάθε ατόμου [Junqueira et al. 1989]. Στα βλέφαρα και στα ανδρικά γεννητικά όργανα δεν υπάρχει υπόδερμα.

Ο λιπώδης ιστός του υποδέρματος διαχωρίζεται με ινώδη διαφραγμάτια σε λοβία, τα οποία περιέχουν πολλά λιπώδη κύτταρα. Τα λιπώδη κύτταρα περιέχουν μεγάλες

ποσότητες λιπιδίων, τα οποία απωθούν τον πυρήνα προς την κυτταρική μεμβράνη (**Εικ. 1.8**) Μέσα στα ινώδη διαφραγμάτια βρίσκονται τα αγγεία και νεύρα του υποδόριου [Νικολαΐδου 2006].

Ο υποδόριος λιπώδης ιστός παρέχει πλευστότητα και λειτουργεί ως από θήκη ενέργειας και ενδοκρινικό όργανο [James et al. 2011].

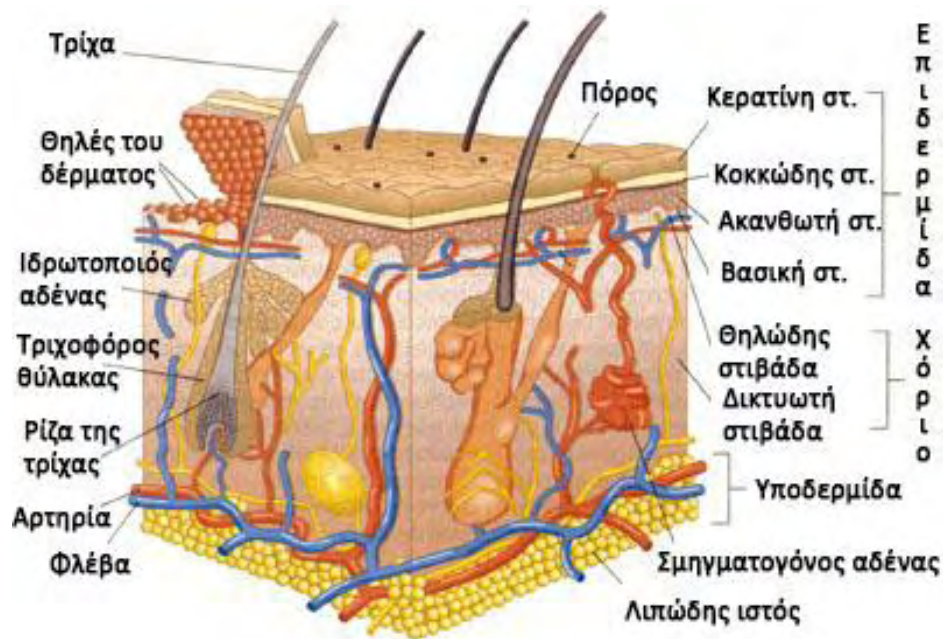


**Εικόνα 1.8.** Υπόδερμα – Υποδόριος λιπώδης ιστός [www.slideshare.net].

## Εξαρτήματα του δέρματος

Στα εξαρτήματα του δέρματος περιλαμβάνονται οι αδένες (σμηγματογόνοι και ιδρωτοποιοί), οι τρίχες και τα νύχια. Εμβρυολογικά τα εξαρτήματα προέρχονται από την επιδερμίδα, βρίσκονται όμως, κυρίως, μέσα στο χόριο ή και στο υπόδερμα (**Εικ. 1.9**) [Νικολαΐδου 2006].





Εικόνα 1.9. Εξαρτήματα του δέρματος [www.gaia-cosmetics.gr].

### Α) Σμηγματογόνοι αδένες του δέρματος

Οι σμηγματογόνοι αδένες κατασκηνώνουν στο χόριο του μεγαλύτερου μέρους της επιφάνειας του σώματος, με μέση πυκνότητα  $100/\text{cm}^2$  μεγαλύτερο τμήμα της επιφάνειας του σώματος, ενώ αυξάνει σε  $400-900/\text{cm}^2$  στο πρόσωπο, το μέτωπο και το τριχωτό της κεφαλής [Junqueira et al. 1989]. Στο παχύ δέρμα των παλαμών και των πελμάτων δεν υπάρχουν σμηγματογόνοι αδένες. Είναι κυψελοειδείς αδένες, οι οποίοι συνήθως αποτελούνται από μερικές αδενοκυψέλες, που καταλήγουν σ' ένα βραχύ πόρο. Αυτός ο πόρος συνήθως εκβάλλει στο ανώτερο τμήμα του τριχοθυλακίου. Οι αδενοκυψέλες αποτελούνται από μία βασική στιβάδα αδιαφοροποίητων αποπλατυσμένων επιθηλιακών κυττάρων, τα οποία στηρίζονται στο βασικό υμένα. Οι πυρήνες τους σταδιακά συρρικνώνονται και τα κύτταρα γεμίζουν με σταγονίδια λίπους για να ραγούν στη συνέχεια. Το προϊόν αυτής της διεργασίας είναι το σμήγμα, το έκκριμα το σμηγματογόνου αδένου, το οποίο μεταφέρεται σταδιακά προς την επιφάνεια του δέρματος.

Ο σμηγματογόνος αδένας αποτελεί παράδειγμα ολοκρινούς αδένου, γιατί το προϊόν της έκκρισης απελευθερώνεται μαζί με υπολείμματα νεκρών κυττάρων. [Kierszenbaum 2007]. Το σμήγμα αποτελείται από ένα σύνθετο μείγμα λιπιδίων, το οποίο περιέχει τριγλυκερίδια, κηρούς, σκουαλένιο, χοληστερόλη και εστέρες της. Οι σμηγματογόνοι αδένες αρχίζουν να λειτουργούν κατά την ήβη. Ο κύριος ρυθμιστικός παράγοντας της εκκριτικής δραστηριότητας του σμηγματογόνου αδένου είναι η τεστοστερόνη, ενώ στις γυναίκες είναι ένας συνδυασμός ωοθηκικών και επινεφρικών ανδρογόνων. Οι λειτουργίες

του σμήγματος στον άνθρωπο είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστες. Πιθανόν έχει ασθενείς αντιβακτηριδιακές και αντιμυκητιασικές ιδιότητες. Το σμήγμα δεν συμμετέχει στην πρόληψη απώλειας νερού [Wheater et al. 2002].

## **B) Ιδρωτοποιοί αδένες του δέρματος**

Οι ιδρωτοποιοί αδένες έχουν ευρεία κατανομή στο δέρμα. Ορισμένες περιοχές όπως η βάλανος του πέους, στερούνται ιδρωτοποιών αδένων. Οι μεροκρινείς ιδρωτοποιοί αδένες είναι απλοί πολυέλικτοι σωληνώδεις αδένες, των οποίων οι πόροι καταλήγουν στην επιφάνεια του δέρματος. Οι πόροι τους δεν διακλαδίζονται και είναι λεπτότεροι σε διάμετρο από το κεντρικό τμήμα. Το εκκριτικό τμήμα του αδένος κατασκηνώνει στο χόριο, έχει πάχος περίπου 0,4 χιλ. και περιβάλλεται από μυοεπιθηλιακά κύτταρα. Η συστολή αυτών των 27 κυττάρων θεωρείται ότι βοηθάει στην αποβολή του εκκρίματος. Το εκκριτικό τμήμα των αδένων περιβάλλεται από ένα αρκετά παχύ βασικό υμένα. Στο τμήμα αυτό περιγράφονται 2 τύποι κυττάρων, τα βαθυχρωματικά και τα διανυγία κύτταρα. Οι εκφορητικοί πόροι επενδύονται από πολύστιβο κυβοειδές επιθήλιο.

Το υγρό που εκκρίνεται από τους ιδρωτοποιούς αδένες δεν είναι ιξώδες και περιέχει ελάχιστες πρωτεΐνες. Εκτός από τους μεροκρινείς ιδρωτοποιούς αδένες υπάρχει και ένας άλλος τύπος –ο αποκρινής αδένος ο οποίος απαντά στη μασχαλιαία περιοχή, στην άλω του μαστού και στη περινεϊκή χώρα. Οι αποκρινείς αδένες είναι πολύ μεγαλύτεροι (με διάμετρο 3,5 χιλ) από ότι οι μεροκρινείς αδένες. Κατασκηνώνουν στον υποδόριο ιστό και οι πόροι τους εκβάλλουν σε τριχοθυλάκια. Αυτοί οι αδένες παράγουν ένα ιξώδες έκκριμα, το οποίο αρχικά είναι άοσμο, αλλά αποκτά τη χαρακτηριστική οσμή του με μικροβιακή ζύμωση. Οι αποκρινείς αδένες νευρώνονται από αδρενεργικές νευρικές απολήξεις, ενώ οι μεροκρινείς αδένες από χολινεργικές ίνες [Kierszenbaum 2007, Wheeler et al. 2002, Junqueira et al. 1989].

## **Γ) Τρίχες**

Οι τρίχες είναι επιμήκεις κερατινοποιημένες δομές προερχόμενες από εγκοιλώσεις του επιθηλίου της επιδερμίδας μέσα στο χόριο και το υπόδερμα. Το χρώμα τους, το μέγεθος τους και η κατανομή τους ποικίλλουν ανάλογα με τη φυλή, την ηλικία, το φύλο και τη περιοχή του σώματος. Οι τρίχες υπάρχουν σε όλο το σώμα εκτός από τις παλάμες, τα πόδια, τα χείλη, τη βάλανος του πέους, την κλειτορίδα και τα μικρά χείλη του αιδοίου. Το δέρμα του προσώπου έχει περίπου 600 τρίχες/cm<sup>2</sup> ενώ το δέρμα του υπόλοιπου σώματος φέρει περίπου 60/cm<sup>2</sup> [Kanitakis 2002, Junqueira et al. 1989]. Διακρίνουμε δύο είδη τριχών:

- α) τις τελογενείς τρίχες, που αντιστοιχούν στις μακριές και παχιές τρίχες του ενήλικα. Αυτές είναι καλύτερα αναπτυγμένες στο τριχωτό του κεφαλιού, το γένειο, το εφήβαιο και τη μασχάλη.
- β) τις τρίχες του χνοώδους τριχώματος, που είναι λεπτές και μικρές και αποτελούν το χνούδι.

Κάθε τρίχα εμφανίζει δύο μέρη, ένα ελεύθερο, το στέλεχος, το οποίο προεξέχει πάνω από την επιφάνεια του δέρματος και είναι βυθισμένο λόξα μέσα στο χόριο, τη ρίζα. Το άκρο της ρίζας απολήγει σε μια κωδωνοειδή διόγκωση, το βολβό της τρίχας. Στο βολβό, επίσης, βρίσκονται μελανοβλάστες, που παίζουν βασικό ρόλο στη δημιουργία του χρώματος της τρίχας. Μέσα στην κοιλότητα του βολβού εισχωρεί το χόριο μαζί με αγγεία σχηματίζοντας τη θηλή της τρίχας.

Η ρίζα της τρίχας περιβάλλεται από το θύλακο της τρίχας. Ο θύλακος της τρίχας αποτελείται εσωτερικά από τον επιθηλιακό θύλακο, που είναι συνέχεια της επιδερμίδας, και εξωτερικά από τον ινώδη θύλακο, που προέρχεται από το χόριο του δέρματος. Ο επιθηλιακός θύλακος εμφανίζει δύο στιβάδες, τον έσω και τον έξω κολεό. Ο έσω κολεός είναι συνέχεια της κεράτινης στιβάδας της επιδερμίδας και αποτελείται από κερατινοποιημένα κύτταρα. Κάτω όμως από την εκβολή των σμηγματογόνων αδένων και ειδικά στο βολβό της τρίχας αποτελείται από τρεις στιβάδες, οι οποίες είναι, από τα μέσα προς τα έξω, η επιδερμίδα του κολεού, η στιβάδα του Huxley και η στιβάδα του Henle. Ο έξω κολεός αποτελεί τη συνέχεια της βασικής και της μαλπιγιανής στιβάδας της επιδερμίδας. Ο ινώδης θύλακος, που σχηματίζεται από το χόριο του δέρματος, περιέχει κολλαγόνες ίνες, άφθονα αγγεία και νευρικές απολήξεις.

Η τρίχα αποτελείται, από μέσα προς τα έξω, από τη μυελώδη ουσία, τη φλοιώδη ουσία και το περιτρίχιο. Η μυελώδης ουσία αποτελείται από κύτταρα οι πυρήνες των οποίων είναι εμφανείς μόνο στο βολβό της τρίχας. Στο άνω τμήμα της ρίζας και στο στέλεχος τα κύτταρα αυτά κερατινοποιούνται. Οι μεσοκυττάριοι χώροι περιέχουν φυσαλίδες αέρα. Η φλοιώδης ουσία είναι το κύριο μέρος του στελέχους της τρίχας. Αποτελείται από αρκετές στιβάδες κερατινοποιημένων κυττάρων, τα οποία διατηρούν τον πυρήνα τους μόνο κοντά στο βολβό. Τα κύτταρα της φλοιώδους ουσίας περιέχουν κοκκία χρωστικής, που παράγονται από μελανοβλάστες που βρίσκονται στο βολβό της τρίχας. Το περιτρίχιο αποτελείται από μία στιβάδα αποπλατυσμένων και κερατινοποιημένων κυττάρων, που διατάσσονται όπως τα κεραμίδια μιας στέγης. Όλα τα κύτταρα που απαρτίζουν την τρίχα καθώς και αυτά του επιθηλιακού θύλακου της προέρχονται από διαιρέσεις του βολβού της τρίχας.

Το χρώμα των τριχών οφείλεται στην παρουσία μελανίνης και στην περιεκτικότητα τους σε αέρα, που βρίσκεται μεταξύ των κυττάρων. Όταν τα μαλλιά γίνονται γκριζα ελαττώνεται η περιεκτικότητα τους σε χρωστική και αυξάνεται η ποσότητα του μεσοκυττάριου αέρα. Στις άσπρες τρίχες δεν υπάρχει καθόλου χρωστική.

Οι τρίχες παρουσιάζουν μια κυκλική περίοδο ανάπτυξης, που διαιρείται σε τρεις φάσεις: την φάση της ανάπτυξης ή αναγεννή φάση, τη φάση αναστολής της ανάπτυξης και προετοιμασία για πτώση ή καταγενή φάση και τη φάση ηρεμίας ή τελογενή φάση.

Στην αναγεννή φάση, η ρίζα της τρίχας βρίσκεται βαθιά στο χόριο ή στο υπόδερμα. Ουσιαστικά στο στάδιο αυτό, η τρίχα γεννιέται από τη θηλή της. Τα κύτταρα του βολβού διαιρούνται κάθε 24 ώρες και παράγουν τα κύτταρα που απαρτίζουν την τρίχα και τον επιθηλιακό θύλακο. Η αναγεννή φάση για τις τρίχες του τριχωτού της κεφαλής διαρκεί από 2 έως 6 έτη και κατά τη διάρκεια της, οι τρίχες αναπτύσσονται 0,35mm ημερησίως. Με

την είσοδο της τρίχας στην καταγενή φάση, η οποία διαρκεί έως δύο βδομάδες, η ανάπτυξη ξαφνικά σταματά, ο βολβός κερατινοποιείται και μετατοπίζεται προς την επιδερμίδα. Στην τελογενή φάση, ο βολβός της τρίχας βρίσκεται ακριβώς κάτω από την εκβολή του σημηματογόνου αδένου. Στο τέλος αυτής της φάσης, που διαρκεί από 3 έως 5 μήνες, οι τρίχες αποπίπτουν είτε αυτόματα είτε κατά το χτένισμα ή το λούσιμο. Απώλεια 50 έως 100 τριχών ημερησίως θεωρείται φυσιολογική.

Στον άνθρωπο, ο σημαντικότερος ρόλος των τριχών φαίνεται να είναι αυτός των υποδοχέων αφής, που εξασφαλίζεται από το πλούσιο αισθητικό νευρικό δίκτυο, που περιβάλλει τον θύλακο της τρίχας. Τέλος, το θυλακικό επιθήλιο είναι ένας σπουδαίος παράγοντας στην αναγέννηση της επιδερμίδας μετά από τραύμα. [Νικολαΐδου 2006, James et al. 2011].

### **Δ) Νύχια**

Τα νύχια είναι αποπλατυσμένα μορφώματα στη ραχιαία επιφάνεια των τελικών φαλάγγων. Το αρχικό τμήμα του νυχιού κατασκηνώνει στην αύλακα του νυχιού και αποτελεί τη ρίζα του νυχιού. Το επιθήλιο της πτυχής του δέρματος που σκεπάζει τη ρίζα του νυχιού αποτελείται από τις συνηθισμένες στοιβάδες κυττάρων. Η κερατίνη στιβάδα αυτής της επιδερμίδας σχηματίζει το επωνύχιο [Wheater et al.,2002]. Η ονυχική πλάκα επικάθεται σε ένα επιδερμικό στρώμα που λέγεται κοίτη του νυχιού. Σε αυτήν την κοίτη υπάρχουν μόνο η βασική και η ακανθωτή στιβάδα. Η ονυχική πλάκα αντιστοιχεί στην κερατίνη στιβάδα του δέρματος. Το επιθήλιο της κοίτης του νυχιού προέρχεται από τη μήτρα του νυχιού. Το κεντρικό άκρο της μήτρας εντοπίζεται βαθιά στη ρίζα του νυχιού, ενώ το περιφερικό άκρο της εκτείνεται ως το εξωτερικό άκρο του μηνίσκου, ο οποίος είναι μια λευκή, αδιαφανής, ημισέληνος στο αρχικό τμήμα του νυχιού. Τα κύτταρα της μήτρας διαιρούνται, μεταναστεύουν περιφερικά και τελικά κερατινοποιούνται σχηματίζοντας το αρχικό τμήμα της ονυχικής πλάκας. Η ονυχική πλάκα κατόπιν διολισθαίνει προς τα εμπρός πάνω στη κοίτη του νυχιού, η οποία δεν συμμετέχει στο σχηματισμό της πλάκας. Το περιφερικό άκρο της πλάκας απελευθερώνεται από τη κοίτη του νυχιού και αποτρίβεται ή κόπτεται. Η σχεδόν διαφανής ονυχική πλάκα και το λεπτό επιθήλιο της κοίτης του νυχιού προσφέρει ένα χρήσιμο όργανο παρατήρησης για τον υπολογισμό της ποσότητας του οξυγόνου στο αίμα καθώς επιτρέπει τη θεώρηση του χρώματος του αίματος στα αγγεία του δέρματος [Kierszenbaum 2007, Wheeler et al. 2002, Junqueira et al. 1989].

### **Αγγεία και νεύρα**

Οι αρτηρίες που τροφοδοτούν το δέρμα σχηματίζουν δύο πλέγματα, ένα μεταξύ της θηλώδους και της δικτυωτής στιβάδας και ένα μεταξύ του χορίου και του υποδόριου ιστού. Από αυτά τα πλέγματα εκφύονται λεπτοί κλάδοι, οι οποίοι αγγειώνουν τις θηλές του χορίου. Κάθε θηλή του χορίου έχει μόνο ένα ανιόντα αρτηριακό και ένα φλεβικό κατιόντα κλάδο. Οι φλέβες διατάσσονται σε τρία πλέγματα. Δύο από αυτά βρίσκονται στο ίδιο

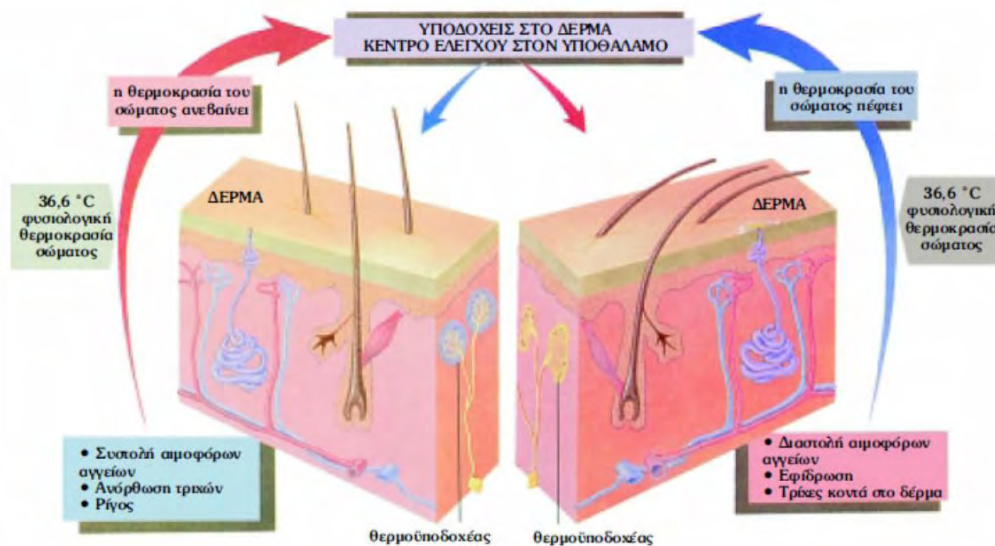
επίπεδο με τα αρτηριακά πλέγματα, ενώ το τρίτο εντοπίζεται στο μέσο του χορίου. Αρτηριοφλεβικές αναστομώσεις με σπειροειδή απαντούν συχνά στο δέρμα. Τα λεμφικά αγγεία αρχίζουν σαν τυφλοί σάκοι στις θηλές του χορίου και συγκλείνουν για να σχηματίσουν δύο πλέγματα όμοια με εκείνα που περιγράφηκαν για τις αρτηρίες [Kierszenbaum 2007, Wheater et al. 2002, Junqueira et al. 1989].

Στο δέρμα υπολογίζεται ότι υπάρχουν 1 εκατομμύριο αισθητικές νευρικές ίνες. Οι περισσότερες βρίσκονται στο πρόσωπο και τα άκρα. Οι νευρικές ίνες εισέρχονται στο υπόδερμα, διακλαδίζονται και σχηματίζουν ένα δίκτυο ινών στο ανώτερο χόριο. Μερικές ίνες διαπερνούν τη βασική μεμβράνη άλλα δεν προχωρούν πολύ μέσα στην επιδερμίδα. Οι νευρικές απολήξεις είναι είτε ελεύθερες είτε ενσωματωμένες σε εξειδικευμένους αισθητικούς υποδοχείς. Υπάρχουν τρεις κύριες κατηγορίες αισθητικών υποδοχέων: οι μηχανοϋποδοχείς, οι θερμοϋποδοχείς και οι υποδοχείς του πόνου. [Νικολαΐδου 2006]

## 1.2 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

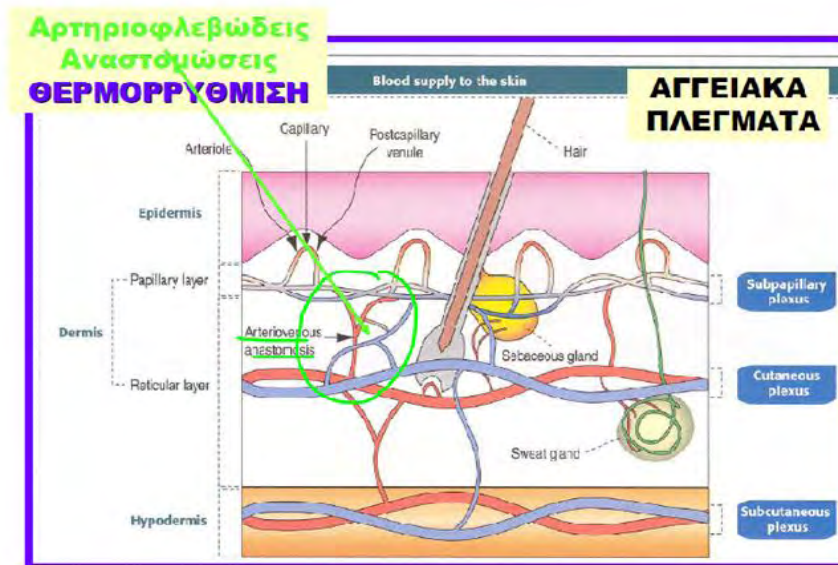
### Α) Ρυθμίζει τη θερμοκρασία του σώματος

Το δέρμα συμμετέχει στη ρύθμιση της θερμοκρασίας του σώματος παρέχοντας ερεθίσματα στον υποθάλαμο, στον οποίο βρίσκεται το θερμορυθμιστικό κέντρο, αλλά και επιτρέποντας, κατά περίπτωση, την αποβολή ή την κατακράτηση της θερμότητας (Εικ. 1.10) [Νικολαΐδου 2006, Wheater et al. 2002].



**Εικόνα 1.10. Θερμορύθμιση – Υποδοχείς στο δέρμα και κέντρο ελέγχου στον υποθάλαμο** [www.ebooks.edu.gr].

Στο δέρμα βρίσκονται οι θερμοϋποδοχείς, οι οποίοι ανιχνεύουν μεταβολές της θερμοκρασίας και μεταβιβάζουν τα ερεθίσματά τους στον υποθάλαμο, ο οποίος ρυθμίζει λειτουργίες όπως η εφίδρωση και το ρίγος. Επιπλέον, η θερμότητα μπορεί να αποβληθεί από το δέρμα με ακτινοβολία, με αγωγή προς τον ψυχρότερο αέρα και με εξάτμιση. Σε περιπτώσεις υψηλών θερμοκρασιών, η εξάτμιση ενισχύει σημαντικά την εφίδρωση. Σημαντικό ρόλο στη θερμορύθμιση παίζει και η μεγάλη αιμάτωση του δέρματος, που είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή που χρειάζεται το δέρμα. Οι πολυάριθμες αρτηριοφλεβικές αναστομώσεις του δέρματος, επίσης, συμβάλλουν στη θερμορύθμιση, ρυθμίζοντας την κυκλοφορία του δέρματος (Εικ. 1.11). Έτσι, όταν χρειάζεται να αποβληθεί θερμότητα από τον οργανισμό λόγω ζέστης, τα αγγεία του δέρματος και οι αρτηριοφλεβικές αναστομώσεις διαστέλλονται, ώστε να κυκλοφορεί περισσότερο αίμα από το δέρμα και να αποβάλλεται περισσότερη θερμότητα από αυτό. Το αντίθετο συμβαίνει σε χαμηλή θερμοκρασία περιβάλλοντος, όπου τα αγγεία και οι αναστομώσεις συστέλλονται [Νικολαΐδου 2006].



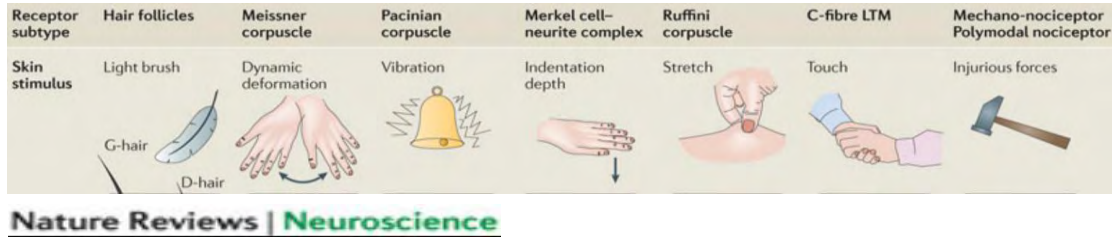
**Εικόνα 1.11. Τα αγγειακά πλέγματα του δέρματος.** Οι αρτηριοφλεβικές αναστομώσεις παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στη θερμορύθμιση [www.slideshare.net].

## **B) Αποτελεί αισθητήριο όργανο της αφής, της πίεσης, της θερμοκρασίας και του πόνου**

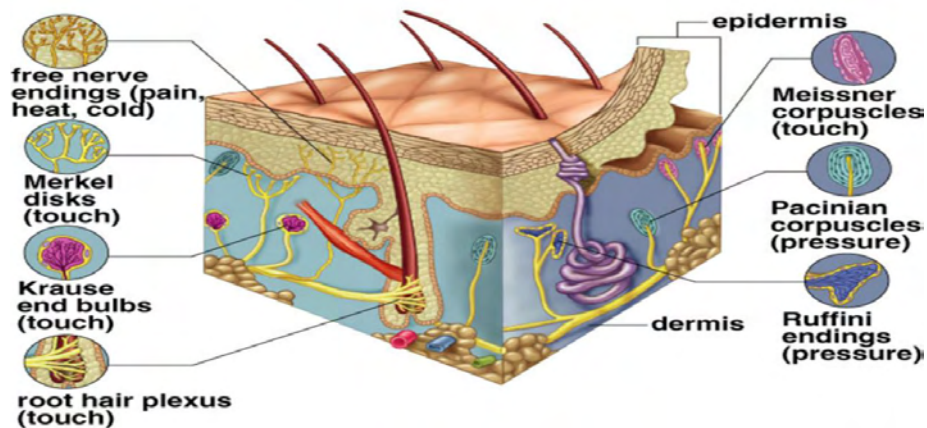
Το δέρμα αποτελεί το αισθητήριο όργανο της αφής. Οι νευρικές ίνες του δέρματος, που μπορεί να είναι είτε ελεύθερες είτε ενσωματωμένες σε ειδικούς υποδοχείς μεταφέρουν



ερεθίσματα για την αίσθηση της αφής (που συμπεριλαμβάνει τη δόνηση και την πίεση), του πόνου, του θερμού και του ψυχρού. Οι μηχανοϋποδοχείς του δέρματος είναι: τα σωματίδια του Meissner, οι υποδοχείς του Merkel και οι υποδοχείς των θυλάκων των τριχών στο επιπολής χόριο και τα σωματίδια του Pacini και του Ruffini στο εν τω βάθει χόριο και το υπόδερμα (Εικ. 1.12 και 1.13) [Νικολαΐδου 2006].



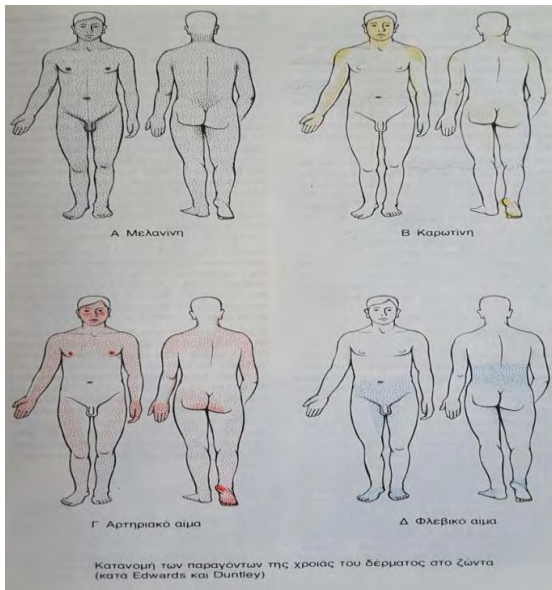
**Εικόνα 1.12. Αισθητικοί υποδοχείς – μηχανοϋποδοχείς δέρματος**  
[Delmas et al. 2011].



**Εικόνα 1.13. Αισθητικοί υποδοχείς – μηχανοϋποδοχείς δέρματος**  
[www.dreamstime.com].

### Γ) Συμμετέχει στις εκδηλώσεις του αυτόνομου νευρικού συστήματος

Οι μηχανισμοί ωχρότητας, κοκκίνισματος του προσώπου και ανόρθωσης των τριχών αποτελούν εκδηλώσεις του αυτόνομου νευρικού συστήματος (Εικ. 1.14) [Kahle et al. 1985].

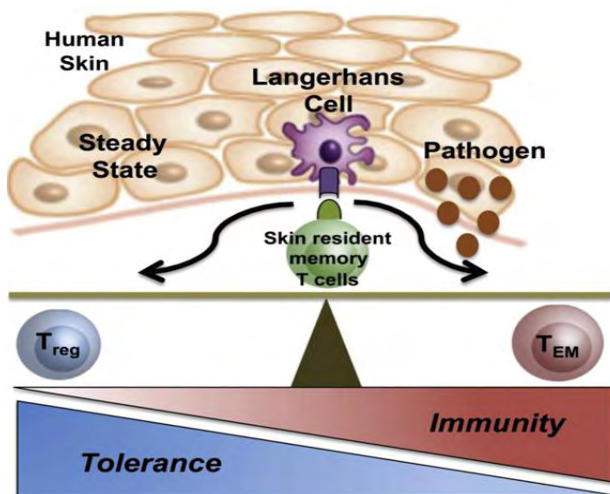


**Εικόνα 1.14. Κατανομή των παραγόντων της χροιάς του δέρματος στον άνθρωπο [Kahle et al. 1985].**

#### Δ) Συμμετέχει στους αμυντικούς μηχανισμούς του οργανισμού

Τα τελευταία χρόνια έχει αναγνωρισθεί ο σημαντικός ρόλος που παίζει το δέρμα στις ανοσολογικές λειτουργίες του οργανισμού. Τα κυριότερα αντιγονοπαρουσιαστικά του δέρματος είναι τα κύτταρα του Langerhans [Νικολαΐδου 2006].

Προσφατες εργασίες έχουν δείξει ότι το δέρμα ενός φυσιολογικού ενήλικα περιέχει 10 – 20 δισεκατομμύρια μόνιμα T λεμφοκύτταρα μνήμης, συμπεριλαμβανομένων βοηθητικών, κυτταροτοξικών, και ρυθμιστικών T κυττάρων, που είναι υπεύθυνα για την απάντηση σε περιβαλλοντικά αντιγόνα. Τα Langerhans κύτταρα του δέρματος συμβάλλουν στην ισορροπία μεταξύ της ανοχής και της ανοσίας του φυσιολογικού δέρματος (Εικ. 1.15) [Seneschal J. et al. 2012].



**Εικόνα 1.15. Κύτταρα Langerhans στο φυσιολογικό δέρμα.**

$T_{reg}$ : T regulatory/T ρυθμιστικά  
 $T_{EM}$ : T Effector Memory/T μνήμης  
 [Seneschal J. et al. 2012].

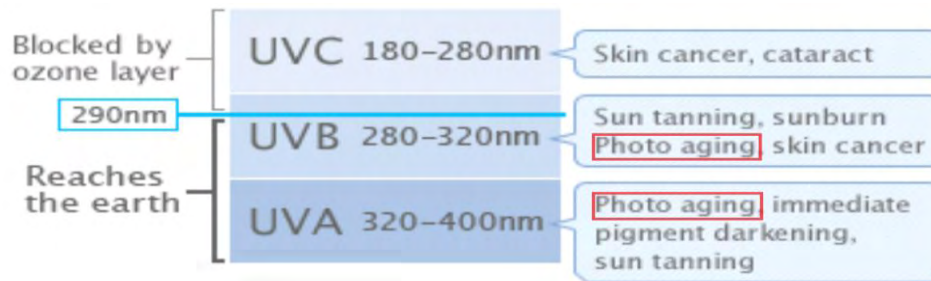


### Ε) Λειτουργεί ως φραγμός

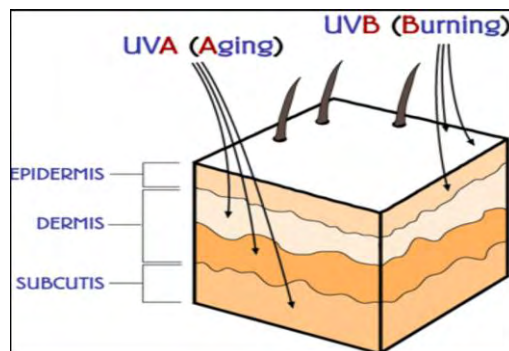
**Ε1) στη δίοδο νερού και ηλεκτρολυτών.** Συντελείται από την κεράτινη στιβάδα επιδερμίδας και από τα λιπίδια του μεσοκυττάριου χώρου [Kierszenbaum 2007].

**Ε2) στην είσοδο μικροοργανισμών.** Συντελείται από την ακεραιότητα και τη συνεχή απόπτωση της κεράτινης στιβάδας, την ξηρότητα του δέρματος και τα λιπίδια του σμήγματος. [Νικολαΐδου 2006].

**Ε3) απορροφά μέρος της υπεριώδους ακτινοβολίας του ήλιου.** Συντελείται από τη μελανίνη της επιδερμίδας και τις πρωτεΐνες της κεράτινης στιβάδας. Αξίζει να αναφερθεί ότι υπάρχουν τρία είδη υπεριώδους ακτινοβολίας, οι UVA, οι UVB και οι UVC. Οι UVC είναι το πιο επικίνδυνο είδος ακτινοβολίας αλλά μπλοκάρεται από το στρώμα του όζοντος. Οι υπεριώδεις ακτίνες Β (UVB) διεισδύουν στην επιδερμίδα, αποτελούν την κύρια αιτία των εγκαυμάτων και, μακροπρόθεσμα, του καρκίνου του δέρματος. Οι UVB ευθύνονται, επίσης, εν μέρει για την πρόωγη γήρανση του δέρματος. Οι υπεριώδεις ακτίνες Α (UVA) διεισδύουν βαθύτερα στο δέρμα και θεωρούνται η κύρια αιτία της γήρανσης του δέρματος (Εικ. 1.16 και 1.17) [Νικολαΐδου 2006].



Εικόνα 1.16. Τα τρία είδη της υπεριώδους ακτινοβολίας [www.kanebo.com].



Εικόνα 1.17. Οι υπεριώδεις ακτίνες Α (UVA) και Β (UVB) [www.liveultrahealthy.com].

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: Η ΓΗΡΑΝΣΗ

Η γήρανση στον άνθρωπο είναι μια πολύπλοκη διαδικασία, στην οποία συμμετέχουν κληρονομικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Πρόκειται για μια βιολογική, φυσιολογική, μη αναστρέψιμη διαδικασία που περιλαμβάνει μεταβολές στην ανατομία, στη φυσιολογία και στην προσαρμοστικότητα του οργανισμού, οι οποίες αυξάνουν την πιθανότητα θανάτου [Holliday R. 1995, Encyclopedia Britannica]. Πολλοί πολιτισμοί θεωρούν το γήρας ως ένδειξη σοφίας, όμως στις κοινωνίες της Δύσης η γήρανση αποτελεί ένα είδος κοινωνικού στίγματος [Klingman and Graham 1989]. Η ανάγκη και η αναζήτηση της αναστροφής αυτής της διαδικασίας και της «αιώνιας νεότητας» είναι τόσο παλιά όσο και ο άνθρωπος και αντανακλάται σε αρχαίους μύθους και ιστορίες από διάφορους πολιτισμούς [Gonzalez et al. 1965].

### 2.1 ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ

Η γήρανση, σε επιστημονικό και πειραματικό επίπεδο, μπορεί να μελετηθεί σε δύο επίπεδα: στην *in vivo* γήρανση και στην *in vitro* γήρανση [Hayflick 1965, Hayflick and Moorhead 1961].

#### ***In vivo* γήρανση**

Η *in vivo* γήρανση μελετάται με: α) τη χρήση πειραματόζωων, β) εξετάζοντας υγιείς αιωνόβιους και γ) εξετάζοντας τα σύνδρομα πρόωμης γήρανσης.

A) Ορισμένα ζώα, όπως η *Drosophila* και ο *Caenorhabditis Elegans*, έχουν μικρό χρόνο ζωής που τα καθιστά ιδανικά για τη μελέτη της διαδικασίας της γήρανσης. Άλλοι μονοκύτταροι οργανισμοί, όπως ο *Saccaromyces cerevisiae*, έχουν ευρέως χρησιμοποιηθεί [Jazwinski 2001]. Ωστόσο, πρέπει να γνωρίζουμε ότι υπάρχουν μηχανισμοί γήρανσης κοινοί για τα διάφορα ζωικά είδη αλλά και μηχανισμοί μοναδικοί για το κάθε είδος [Martin et al. 1996].

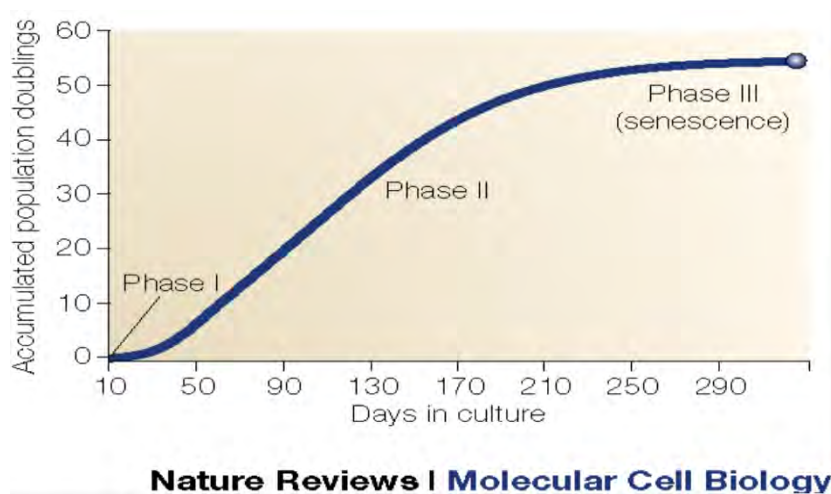
B) Πολύτιμες πληροφορίες μπορούμε να λάβουμε κι από συγκεκριμένες ομάδες ανθρώπων, όπως η ομάδα των αιωνόβιων, που θεωρούνται πολύ καλό ανθρώπινο μοντέλο «επιτυχούς» γήρανσης, διότι έχουν ξεφύγει από ασθένειες που σχετίζονται με τη γήρανση και συνήθως βρίσκονται σε καλή ψυχική και πνευματική κατάσταση [Gonos 2000].

Γ) Τα σύνδρομα πρόωμης γήρανσης ή σύνδρομα προγηρίας είναι σπάνιες γενετικές νόσοι που εμφανίζονται ως αποτέλεσμα ορισμένων μεταλλάξεων, με επιταχυνόμενη γήρανση σε ανθρώπους και σε ζώα. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι το σύνδρομο Werner's και το σύνδρομο Hutchinson-Gilford [Martin and Oshima 2000]. Το 90% των περιπτώσεων του

συνδρόμου Werner οφείλεται σε υπολειπόμενη μεταλλαγή ενός γονιδίου που κωδικοποιεί μια ReqQ ελικάση, την WRN, η οποία εμπλέκεται κυρίως στην επιδιόρθωση του DNA [Cheung et al. 2015]. Έτσι, τα κύτταρα των ασθενών με αυτό το σύνδρομο εμφανίζουν αυξημένη γενωμική αστάθεια και πραγματοποιούν πολύ μικρότερο αριθμό κυτταρικών διαιρέσεων σε σύγκριση με τα φυσιολογικά κύτταρα [Schriner et al 2000]. Παρομοίως, στο σύνδρομο Hutchinson-Gilford εμφανίζεται μεταλλαγμένη η πυρηνική πρωτεΐνη Lamin A/C [Gordon et al. 2014].

## ***In vitro* γήρανση**

Η μελέτη του φαινομένου της γήρανσης *in vitro* δεν είναι εύκολη, εξαιτίας βιοηθικών προβλημάτων που δημιουργούνται από τις απευθείας μελέτες σε εθελοντές και ζώα, αλλά και των πρακτικών προβλημάτων από την ανάγκη για μεγάλο αριθμό δειγμάτων [Sisoula 2011]. Το κύριο είδος *in vitro* γήρανσης είναι η αναδιπλασιαστική γήρανση (replicative senescence). Τα φυσιολογικά κύτταρα των θηλαστικών, όταν μεταφερθούν στην καλλιέργεια, χάνουν σταδιακά το πολλαπλασιαστικό δυναμικό τους και αφού πραγματοποιήσουν συγκεκριμένο αριθμό κυτταρικών διπλασιασμών, φτάνουν στο σημείο της μη αντιστρεπτής παύσης του πολλαπλασιασμού τους. Η διαδικασία της διαδοχικής μείωσης του κυτταρικού πολλαπλασιαστικού δυναμικού είναι γνωστή ως αναδιπλασιαστική γήρανση, δηλαδή γήρανση που καθορίζεται από τον πραγματοποιούμενο αριθμό κυτταρικών διαιρέσεων. Η αναδιπλασιαστική γήρανση συνδέεται άμεσα με τη σταδιακή μείωση των τελομερών. Σε κάθε κυτταρική διαίρεση, το μήκος των τελομερών μειώνεται σταδιακά, έως ότου φτάσει ένα συγκεκριμένο «κρίσιμο» μήκος στο οποίο πιστεύεται ότι ενεργοποιείται η διαδικασία της γήρανσης [Campisi 2001]. Η διαδικασία αυτή έχει ονομαστεί ρεπλικόμετρο, δηλαδή ένα είδος «μετρητή» των κυτταρικών διπλασιασμών [Kipling 2001]. Η διαδικασία της γήρανσης και η παύση του πολλαπλασιασμού επιτυγχάνεται μέσω ενεργοποίησης ογκοκατασταλτικών γονιδίων, του p53 και των αναστολέων των κυκλινο-εξαρτώμενων κινασών (cyclin-dependent kinase inhibitors, CDKIs), p16<sup>INK4A</sup>, p19<sup>ARF</sup> και p21<sup>Cip1/Waf1/sd1</sup> [Serrano and Blasco 2001]. Η «τυπική καμπύλη του Hayflick» είναι ένα γράφημα στο οποίο αποτυπώνεται ο αριθμός των διπλασιασμών που πραγματοποιούν οι άνθρωποι ινοβλάστες στην καλλιέργεια (**Εικ. 2.1**). Ο συνολικός χρόνος ζωής των κυττάρων σε *in vitro* συνθήκες είναι γνωστός και ως «όριο Hayflick», ενώ έχει βρεθεί πως το μέγιστο προσδόκιμο ζωής του κάθε είδους σχετίζεται ανάλογα με το *in vitro* προσδόκιμο ζωής των ινοβλαστών του κάθε είδους [Smith and Pereira-Smith 1996]. Αναφέρονται στη βιβλιογραφία διάφοροι περιορισμοί που διέπουν το συσχετισμό μεταξύ *in vitro* και *in vivo* γήρανσης, φαίνεται όμως ότι το μοντέλο της αναδιπλασιαστικής γήρανσης είναι το καλύτερο και το πλέον αποδεκτό *in vitro* σύστημα μελέτης του φαινομένου της γήρανσης των κυττάρων των θηλαστικών [Campisi 2001].



**Εικόνα 2.1. Καμπύλη του Hayflick.** Μια μεγάλη περίοδος συνεχούς αύξησης ακολουθείται από μια περίοδο με μειωμένο ρυθμό αύξησης που καταλήγει σε παύση πολλαπλασιασμού.

Phase I: πρωτογενής καλλιέργεια

Phase II: αθροιστικοί πληθυσμοί περιόδου συνεχούς άφθονης αύξησης

Phase III: παύση πολλαπλασιασμού, αναδιπλασιαστική γήρανση

[Shay and Wright 2000].

## 2.2 ΓΗΡΑΝΣΗ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Το δέρμα, όπως όλοι οι ιστοί, υπόκειται στις εκφυλιστικές διαδικασίες της γήρανσης και αποτελεί το κύριο όργανο στο οποίο είναι ιδιαίτερα εμφανείς οι αλλαγές της γήρανσης [Zouboulis and Boschnakow 2001].

Η γήρανση του δέρματος γοητεύει τους ερευνητές για δεκαετίες και πρόκειται για μια πολύπλοκη και μακρόχρονη διαδικασία που επηρεάζει όλα τα δομικά και λειτουργικά στοιχεία του [Uitto and Bernstein 1998].

Σήμερα πλέον αναγνωρίζουμε ότι η γήρανση του δέρματος περιλαμβάνει δύο διακριτά, κλινικά και βιολογικά, φαινόμενα: α) την ενδογενή/ χρονολογική γήρανση (intrinsic aging/ chronologic aging) και β) την εξωγενή/ περιβαλλοντική γήρανση/ φωτογήρανση (extrinsic aging/ environmental aging/ photoaging). Η ενδογενής γήρανση είναι το λεγόμενο «βιολογικό ρολόι», που επηρεάζει το δέρμα με τον ίδιο τρόπο που επηρεάζει και όλα τα εσωτερικά όργανα, δηλαδή με μη αναστρέψιμη εκφύλιση του ιστού, κυρίως του συνδετικού. Εμφανίζεται σε όλο το δέρμα, σε όλους τους ανθρώπους και δεν γίνεται πρόληψη [Wolff et al. 2012]. Η εξωγενής γήρανση είναι στην πραγματικότητα η επιτάχυνση της ενδογενούς γήρανση λόγω εξωτερικών παραγόντων, όπως η ηλικιακή ακτινοβολία, το κάπνισμα, η ατμοσφαιρική μόλυνση και οι φλεγμονές που προκαλούν

ακατάλληλα καθαριστικά, η κακομεταχείριση, τα καλλυντικά αλλά και διάφορες ασθένειες και μπορεί να γίνει πρόληψη [Gilchrest 1995]. Το πιο βασικό αίτιο της εξωγενούς γήρανσης είναι η ηλιακή ακτινοβολία για αυτό και αναφέρεται και ως φωτογήρανση. Τα κυριότερα ιστολογικά/κλινικά χαρακτηριστικά του γερασμένου δέρματος φαίνονται στην **Εικ. 2.2** και θα περιγραφούν αναλυτικά στη συνέχεια [Farage M. et al. 2010].

Changes in the structure of aged skin	
	Observed effect of aging
	Lower lipid content
Epidermis	Dermal-epidermal junction flattens
	Number of enzymatically active melanocytes decreases by 8% to 20% per decade
	Number of Langerhans cells decreases
	Capacity for re-epithelization diminishes
	Number of pores increases
Dermis	Thickness reduced (atrophy)
	Vascularity and cellularity decrease
	Collagen synthesis decreases
	Pacinian and Meissner's corpuscles degenerate
	Structure of sweat glands becomes distorted, number of functional sweat glands decreases
	Elastic fibers degrade
	Number of blood vessels decreases
	Number of nerve endings reduced
Hypodermis	Distribution of subcutaneous fat changes
	Overall volume decreases
Appendages	Hair loses normal pigments
	Hair thins
	Number of sweat glands decreases
	Nail plates become abnormal
	Sebum production reduced

**Εικόνα 2.2. Κύρια ιστολογικά χαρακτηριστικά γερασμένου δέρματος ταξινομημένα κατά στιβάδες και εξαρτήματα δέρματος [Farage M. et al. 2010].**

## Η ενδογενής/χρονολογική γήρανση του δέρματος

### Μακροσκοπική και ιστολογική εικόνα

Η ενδογενής γήρανση, σε γενικές γραμμές, προκαλεί ήπια μακροσκοπικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά σε σχέση με την εξωγενή γήρανση (**Εικ. 2.3**) [Fitzpatrick and Morelli 2011] που προκαλούν κυρίως πρωταρχική μείωση της λειτουργικότητας του δέρματος (**Εικ. 2.4**) [Wolff et al. 2012].



**Εικόνα 2.3. Οι αδρές/λεπτές ρυτίδες δίπλα στο μάτι οφείλονται στην ενδογενή γήρανση ενώ οι μεγάλες/τραχείες ρυτίδες οφείλονται πρωταρχικά στην φωτογήρανση [Fitzpatrick and Morelli 2011].**

#### Functions of Human Skin That Decline with Age

- Barrier function
- Cell replacement
- Chemical clearance
- DNA repair
- Epidermal hydration
- Immune responsiveness
- Mechanical protection
- Sebum production
- Sensory perception
- Sweat production
- Thermoregulation
- Vitamin D production
- Wound healing

**Εικόνα 2.4. Λειτουργίες του δέρματος του ανθρώπου που μειώνονται κατά τη γήρανση [Wolff et al. 2012].**

Μακροσκοπικά λοιπόν, εξαιτίας της ενδογενούς γήρανσης το δέρμα εμφανίζεται ήπια ατροφικό, οι ρυτίδες που δημιουργούνται είναι ήπιες, χωρίς τηλεαγγειεκτασίες και υπερκεράτωση ενώ οι μελαγχρωματικές διαταραχές είναι ελάχιστες. Χαρακτηριστικός είναι και ο γεροντικός κνησμός, που ενίοτε είναι ιδιαίτερα βασανιστικός λόγω και της μειωμένης εφίδρωσης του δέρματος. Τέλος, η ενδογενής γήρανση μπορεί να προκαλέσει καλοήθη νεοπλάσματα, ενώ αξίζει να αναφερθεί ότι το γερασμένο δέρμα είναι ανελαστικό και αναπλάθεται πιο αργά μετά από τραυματισμό [Wolff et al. 2012].

Όλα αυτά τα μακροσκοπικά ευρήματα έχουν την προέλευση τους από το ιστολογικό επίπεδο που εμφανίζει κι αυτό ήπια φαινόμενα. Η κεράτινη στιβάδα παραμένει σχετικά ανεπηρέαστη, αλλά γενικά η επιδερμίδα και το χόριο λεπταίνουν. Χαρακτηριστική είναι η αποπλάτυνση του χοριοεπιδερμικού φραγμού που έχει τεράστια σημασία για την προστασία του δέρματος [Gilchrest 1982]. Ιστολογικά παρατηρείται ακόμη μείωση στον αριθμό και τη βιοσυνθετική ικανότητα των ινοβλαστών [Bolognia 1993] και προοδευτική μείωση του ελαστικού ιστού στη θηλώδη δερμίδα [Francis and Robert 1984]. Το δερματικό κολλαγόνο μειώνεται με την ηλικία και οι λεπτές αρχιτεκτονικά δομημένες ίνες που παρατηρούνται στην παιδική και νεότερη ηλικία γίνονται παθολογικά πυκνές και



τυχαία δομημένες. Ο αριθμός και η λειτουργία των σμηγματογόνων και ιδρωτοποιών αδένων μειώνονται δραματικά [Wolff et al. 2012].

### **Μηχανισμοί ενδογενούς γήρανσης**

Κύρια αιτία της ενδογενούς γήρανσης είναι η κυτταρική γήρανση που διακρίνεται στην α) αναδιπλασιαστική γήρανση και β) στην επαγόμενη από το στρες –και κύρια τα αντιδραστικά στοιχεία οξυγόνου (reactive oxygen species-ROS)- κυτταρική γήρανση.

A) Αναδιπλασιαστική γήρανση - Τελομερή:

Τα τελομερή είναι 100-400 βάσεις (επαναλήψεις της αλληλουχίας TTAGGG) που βρίσκονται στα άκρα κάθε χρωμοσώματος. Φυσιολογικά υπάρχουν σε δομή θηλιάς που «κρύβει» την προεξοχή του 3' άκρου της έλικας του DNA. Όταν η δομή αυτή της θηλιάς αποδομείται και εκτίθεται το 3' άκρο (είτε γιατί έφτασε στο «κρίσιμο μήκος» μετά από διαδοχικές μιτώσεις – «όριο Hayflick», είτε λόγω κάποιας βλάβης του DNA λόγω της UV ακτινοβολίας ή των ROS), ενεργοποιείται το p53 και το κύτταρο οδηγείται σε γήρανση ή σε απόπτωση [Gilchrest and Krutmann 2006].

B) Επαγόμενη από το στρες κυτταρική γήρανση - Βλάβες στο DNA και γήρανση του δέρματος:

Το δέρμα, όπως και τα άλλα όργανα του σώματος, εκτίθενται συνεχώς σε ROS που παράγονται κατά τη διάρκεια του αερόβιου μεταβολισμού. Αν και το δέρμα περιέχει αντιοξειδωτικά ένζυμα, όπως superoxide dismutases, catalase, glutathione peroxidase, και μη ενζυμικά αντιοξειδωτικά μόρια, όπως βιταμίνη E, συνένζυμο Q10, ασκορβικό και καροτενοειδή, αυτό το σύστημα των αντιοξειδωτικών είναι λιγότερο αποτελεσματικό και τείνει να καταστρέφεται λόγω της γήρανσης [Wolff et al. 2012]. Ο ακριβής μηχανισμός δράσης των ROS στη γήρανση αναλύεται στη συνέχεια. (βλ. φωτογήρανση). Τα ROS προκαλούν βλάβες σε όλα τα μακρομόρια των κυττάρων και αυτές που προκαλούνται στο DNA σχετίζονται όπως αναφέρθηκε με την κυτταρική γήρανση και ως εκ τούτου και με τη γήρανση του δέρματος. Βλ. και *In vivo* γήρανση – Σύνδρομο πρώιμης γήρανσης

## **Η εξωγενής/περιβαλλοντική γήρανση ή φωτογήρανση**

### **Μακροσκοπική και ιστολογική εικόνα**

Τα κλινικά σημεία που σχετίζονται με τη φωτογήρανση περιλαμβάνουν τις μελαγχρωματικές αλλοιώσεις, τη χαρακτηριστική κίτρινη χροιά του δέρματος (ελάστωση), βαθιές/τραχείς ρυτίδες, τηλεαγγειεκτασίες καθώς και ακτινικές προκαρκινικές βλάβες, όπως η ακτινική υπερκεράτωση και τα δερματικά ακτινικά καρκινώματα, όπως το βασικοκυτταρικό καρκίνωμα του δέρματος [Lewis et al. 2001, Gilchrest and Yaar 1992]. Το γερασμένο φωτοπροστατευμένο δέρμα μπορεί να έχει ρυτίδες, αλλά είναι πιο λεπτές και δεν έχει σημεία ακτινικών βλαβών [Lavker and Gilchrest 1995]. Συγκεκριμένοι παθολογικοί φαινότυποι του δέρματος που έχουν άμεση σχέση με την ηλιακή ακτινοβολία και παρατηρούνται πολύ συχνά είναι η ακτινική ελάστωση και το σύνδρομο Favre-

Racouchot που χαρακτηρίζεται από οζώδη ελάστωση και ηλιακούς φαγέσωρες [Lewis et al. 2004]. Ο όρος ακτινική ελάστωση χρησιμοποιείται για να περιγράψει την παθολογική συγκέντρωση ελαστικών ινών που σχετίζεται άμεσα με την έκθεση στην ηλιακή ακτινοβολία (Εικ. 2.5).



**Εικόνα 2.5. Οζώδης ελάστωση με ηλιακούς φαγέσωρες που σχετίζονται με ακτινική ελάστωση του δέρματος/φωτογήρανση [Fitzpatrick and Morelli 2011].**

Ιστολογικά το φωτοεκτεθειμένο δέρμα δείχνει μια απώλεια της φυσιολογικής δομής των κερατινοκυττάρων της επιδερμίδας. Συγκεκριμένα τα κερατινοκύτταρα χαρακτηρίζονται από ατυπία, ειδικά στα κατώτερα επιδερμικά στρώματα [Gilchrist 1996]. Όσον αφορά στο χόριο, οι ινοβλάστες αυξάνονται σε αριθμό και εμφανίζονται παθολογικά υπερπλαστικοί και τα φλεγμονώδη φαινόμενα είναι έντονα. Αυτή η κλινική και ιστολογική εικόνα χαρακτηρίζεται ως ηλιοδερματίτιδα. Η μικροαγγείωση παρουσιάζει κι αυτή παθολογικές αλλαγές και τα αγγειακά τοιχώματα είναι πεπαχυσμένα. Το κολλαγόνο του δέρματος (τύπου I και III) μειώνεται στο φυσιολογικό γερασμένο δέρμα λόγω της ενδογενούς γήρανσης, όμως η μείωση επιταχύνεται ραγδαία στις φωτοεκτεθειμένες περιοχές [Wolff et al. (2012)]. Η περιεκτικότητα σε ελαστικές ίνες μειώνεται με την ηλικία, ενώ στη φωτογήρανση η ποσότητα της ελαστίνης αυξάνεται ανάλογα με την ποσότητα της συνολικής ηλιακής ακτινοβολίας. Η παραγωγή της ελαστίνης έχει αποδειχθεί ότι επάγεται *in vitro* από UV ακτινοβολία [Bernstein et al 1995]. Η ελαστίνη όμως του φωτογηρασμένου δέρματος παρουσιάζεται ανώμαλη και φαίνεται να κατέχει περιοχές που υπό φυσιολογικές συνθήκες κατείχε το κολλαγόνο. Υποστηρίζεται ότι το φαινόμενο αυτό οφείλεται σε μια διαφασική διαδικασία στην οποία αρχικά παρατηρείται παθολογική υπερπλασία του φυσιολογικού ελαστικού ιστού και στη συνέχεια η ελαστίνη αυτή γίνεται δομικά ανώμαλη εξαιτίας χρόνιων φλεγμονωδών διαδικασιών [Lavker and Klingman 1988].



## Μηχανισμοί εξωγενούς γήρανσης/φωτογήρανσης

Η UV ακτινοβολία είναι σε θέση να επάγει βλάβες στο DNA, που αν δεν επιδιορθωθούν μπορούν να οδηγήσουν σε μεταλλάξεις στην αλληλουχία του DNA. Συνήθως, αυτές οι μεταλλάξεις είναι της μορφής της μετάβασης από C σε T και από CC σε TT, οι οποίες είναι γνωστές και ως οι «UV χαρακτηριστικές βλάβες». [Kochegar 1995]. Η UVB είναι η κύρια αιτία της άμεσης βλάβης του DNA [Yaar and Gilchrest 2008].

Η UVA, και σε μικρότερο βαθμό η UVB, έχει την ικανότητα να προκαλέσει βλάβες στο DNA έμμεσα μέσω της παραγωγής ROS (που περιλαμβάνουν ελεύθερες ρίζες οξυγόνου αλλά και περοξειδία-ONOO- και υπεροξειδία-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Τα ROS προκαλούν βλάβες σε όλα τα κυτταρικά μακρομόρια (λιπίδια, πρωτεΐνες, DNA) και η 8-ύδροξυγουανίνη είναι η χαρακτηριστικότερη οξειδωτική βλάβη στο DNA (**Εικ. 2.6**) [Yaar and Gilchrest 2008].

Η UV ακτινοβολία, μέσω της επαγωγής των ROS, προκαλεί μεταλλάξεις και στο μιτοχονδριακό DNA. Το μιτοχονδριακό DNA αποτελείται από 16.559 bp που σχηματίζουν ένα κυκλικό διπλής έλικας μόριο, από το οποίο 4-10 αντίγραφα βρίσκονται σε κάθε κύτταρο. Η μετάλλαξη που αναγνωρίζεται στο μιτοχονδριακό DNA σε φωτογηρασμένο δέρμα, και συγκεκριμένα στους ινοβλάστες του χορίου είναι μια μετάλλαξη διαγραφής 4.997 bp και ονομάζεται «κοινή διαγραφή» (common deletion) (**Εικ. 2.6**) [Koch et al 2001].

Η UV ακτινοβολία, μέσω της επαγωγής των ROS μπορεί, επίσης, να προκαλέσει ενεργοποίηση του πυρηνικού μεταγραφικού παράγοντα κB (NF-κB) που επάγει την έκφραση προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, όπως οι ιντερλευκίνες IL-1, IL-6, IL-8, του VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) και του TNF-α κυρίως στα κερατινοκύτταρα και τους ινοβλάστες (**Εικ. 2.6**) [Yaar and Gilchrest 2008, Fischer et al. 2002].

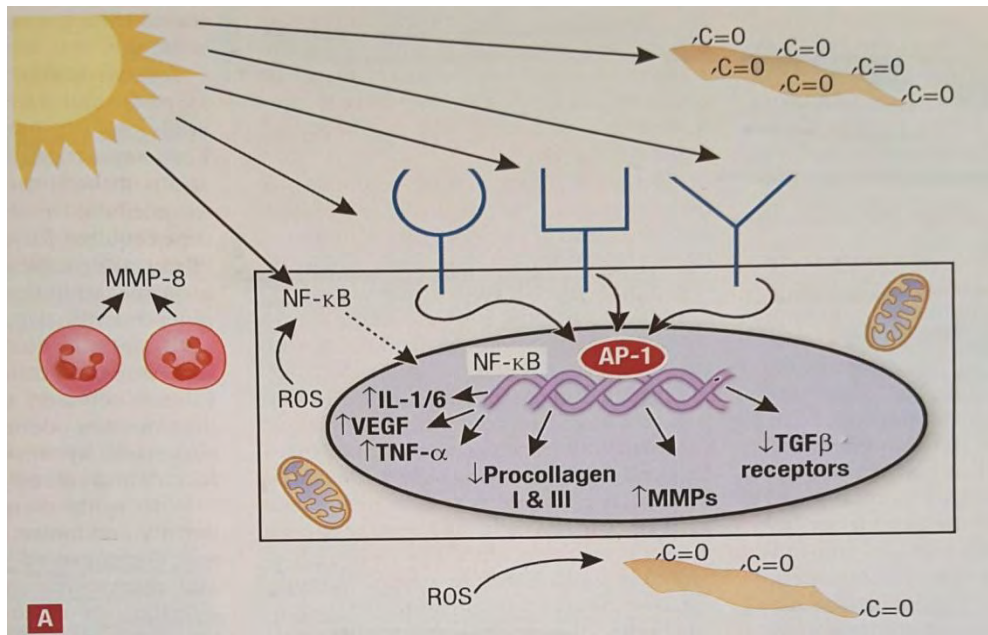
Τα ROS, επίσης, οδηγούν στο σχηματισμό καρβονυλικών ομάδων στις πρωτεΐνες (carbonyl groups C=O), -οξείδωση πρωτεϊνών- και σε συσσώρευση των οξειδωμένων πρωτεϊνών (κυρίως του χορίου – βλ. ECM), στα ανώτερα τμήματα του χορίου (**Εικ. 2.6**) [Yaar and Gilchrest 2008].

Η UV ακτινοβολία μπορεί να ενεργοποιήσει και κατευθείαν υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης, που με τη σειρά τους θα ενεργοποιήσουν την ενεργοποιούσα πρωτεΐνη-1, AP-1(activator protein-1). Η AP-1, που είναι ένας πυρηνικός μεταγραφικός παράγοντας που αυξάνει τη μεταγραφή των μεταλλοπρωτεϊνών MMPs (matrix metalloproteinases) και μειώνει την έκφραση των γονιδίων του προκολλαγόνου τύπου I και III και των υποδοχέων του TGF-β (transforming Growth Factor-β), με τελικό αποτέλεσμα την αποδόμηση των συστατικών του χορίου, και ιδιαίτερα του εξωκυττάρου στρώματος του χορίου ECM (extracellular matrix) [Yaar and Gilchrest 2008, Wlaschek et al. 2001]. Το ECM είναι ένα πολύπλοκο σύμπλεγμα πρωτεϊνών (δομικών πρωτεϊνών όπως κολλαγόνο, ελαστίνη, δικτυωτές ίνες, πρωτεϊνών σύνδεσης όπως ινωδοδεκτίνη, λαμινίνη και μικρές γλυκοπρωτεΐνες, όπως σελεκτίνες και καντχερίνες) και πολυσακχαριτών (κυρίως γλυκοζαμινογλυκάνες, οι οποίες συνδέονται με τις πρωτεΐνες και σχηματίζουν τις πρωτεογλυκάνες) και συνεισφέρει στη δομή και τη λειτουργία του χορίου. Αξίζει να

αναφερθεί ότι η AP-1 έχει 2 τμήματα, το συνεχώς εκφραζόμενο c-Fos και το UV-επαγόμενο c-Jun [Fisher et al 1996]. Η υπερέκφραση του c-Jun έχει βρεθεί ότι σε καλλιέργειες ινοβλαστών μειώνει την έκφραση του κολλαγόνου τύπου I [Fisher et al. 2000]. Ένα ενδιαφέρον στοιχείο είναι ότι το κατεστραμμένο κολλαγόνο μπορεί να καταστείλει τη σύνθεση νέου κολλαγόνου (Εικ. 2.6) [Varani et al. 2002, Fliegel et al. 2003].

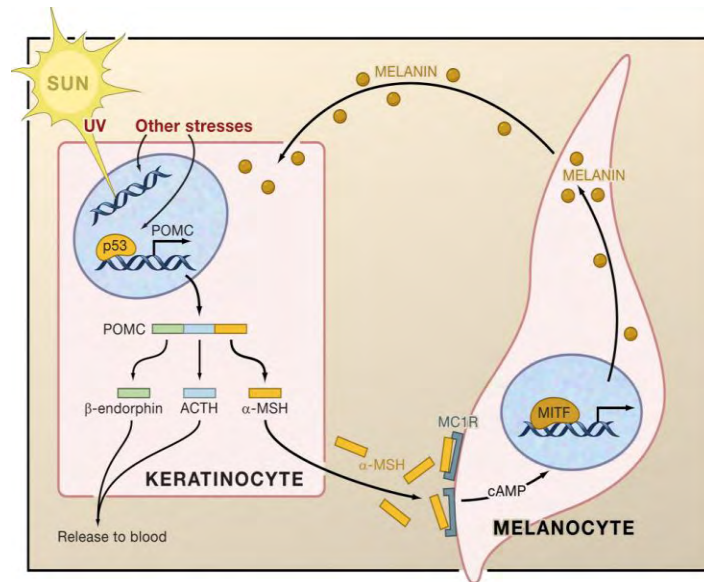
Επίσης, η UV ακτινοβολία μπορεί να ενεργοποιήσει και άμεσα το μεταγραφικό παράγοντα NF-κβ που κι αυτός επάγει την έκφραση των MMPs όπως της MMP-9 (ή αλλιώς ζελατινάση A, η οποία έχει ως υπόστρωμα: αποδομημένο κολλαγόνο-ζελατίνη, κολλαγόνο τύπου I, IV, V, VII, X, XI, ελαστίνη, φμπρονεκτίνη, λαμινίνη-5, αγγρεκάνη, υαλονεκτίνη) (Εικ. 2.6) [Kang et al. 2001].

Το δέρμα που εκτίθεται στην UV ακτινοβολία διηθείται από ουδετερόφιλα που παράγουν κι αυτά MMP-8 (ή αλλιώς κολλαγονάση 2, η οποία έχει ως υπόστρωμα: κολλαγόνο τύπου I>II>III, VII, X, ζελατίνη, αγγρεκάνη) και συμβάλλουν κι αυτά με τη σειρά τους στην αποδόμηση των συστατικών του χορίου (Εικ. 2.6) [Yaar and Gilchrest 2008].



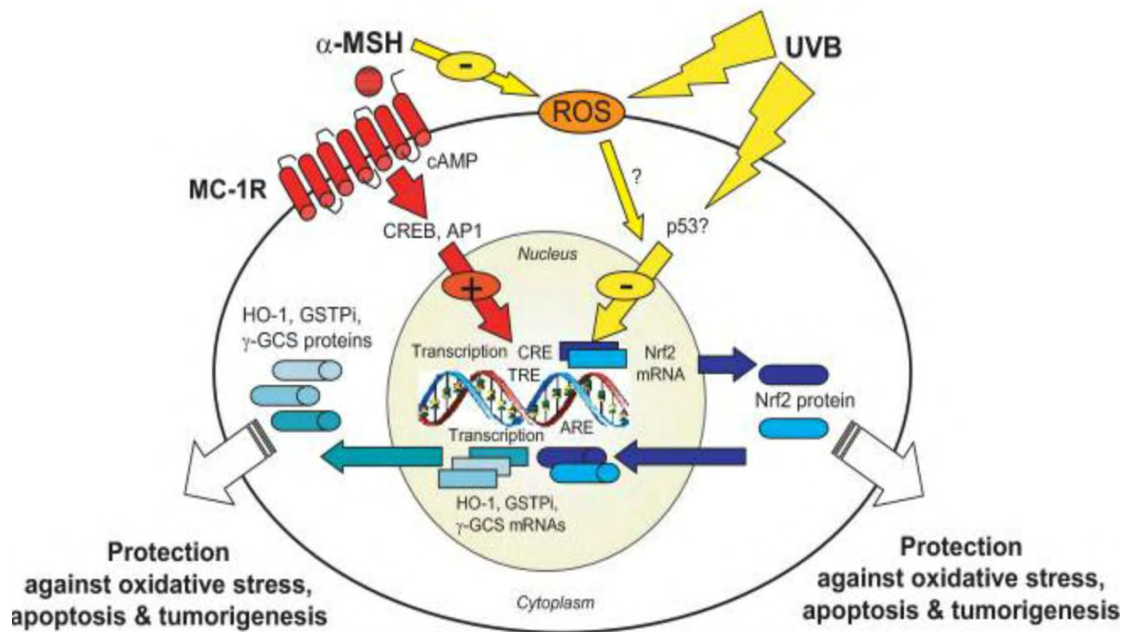
**Εικόνα 2.6. Μηχανισμοί φωτογήρανσης [Halachmi, Yaar, Gilchrest 2005].**

Να αναφέρουμε ότι η p53 έχει πρωτεύοντα ρόλο στους μηχανισμούς παύσης κυτταρικού κύκλου μετά από βλάβη του DNA και επιδιόρθωσης, όπως επίσης και στην απόπτωση. Ο μηχανισμός της επαγωγής της p53 από την UV ακτινοβολία φαίνεται στην **εικόνα 2.7**.



**Εικόνα 2.7. Ο ρόλος της p53 στη μελάγχρωση του δέρματος μετά από έκθεση σε UV ακτινοβολία.** Σε απάντηση του UV-επαγόμενου γενετοξικού stress, η p53 ενεργοποιείται στα κερατινοκύτταρα του δέρματος και παρακινεί τη μεταγραφή του γονιδίου της προ-οπιομελανοκορτίνης (POMC/ pro-οριομελανοκορτίνης). Από το πρόδρομο πολυπεπτίδιο της POMC μπορούν να προκύψουν ποικίλα βιοδραστικά προϊόντα συμπεριλαμβανομένου της α-MSH, η οποία μέσω παρακρινικής δράσης στα μελανοκύτταρα της επιδερμίδας (μεσολαβούμενη από τον υποδοχέα της α-MSH-MCR1 και τον μελανοκυτταρικό-melanocytic μεταγραφικό παράγοντα-MITF) οδηγεί στην παραγωγή και την κατανομή μελανίνης μεταξύ των κυττάρων του δέρματος. Η απελευθέρωση της ACTH (adrenocorticotropic hormone-αδρενοκορτικοτρόπου ορμόνης) και του οπιοειδούς πεπτιδίου της β-ενδορφίνης (β-endorphin) στο αίμα πιθανόν να ανακουφίζουν από τη φλεγμονή που προκαλεί η ηλιακή ακτινοβολία και να συμμετέχουν στη συμπεριφορά αναζήτησης του ήλιου (sun-seeking behavior) [Oren and Bartek 2007].

Τελευταία βιβλιογραφικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι η UV ακτινοβολία και κυρίως η UVB, προκαλεί οξειδωτικό stress μέσω της μείωσης ενός μεταγραφικού παράγοντα της Nrf2 (Nuclear factor erythroid-derived 2) και των Nrf-εξαρτώμενων γονιδίων (heme oxygenase-1 HO-1,  $\gamma$ -glutamylcysteine synthetase  $\gamma$ -GCS, glutathione-S-transferase Pi GSTPi) είτε απευθείας είτε μέσω της παραγωγής ROS. Προστατευτική δράση στο μηχανισμό αυτό ασκεί η  $\alpha$ -MSH, μέσω της αύξησης του Nrf2 και των Nrf-εξαρτώμενων γονιδίων ( $\alpha$ -Melanocyte-Stimulating Hormone) (Εικ. 2.8) [Kokot et al. 2009]. Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι πρόσφατα βρέθηκε συσχέτιση μεταξύ DNA πολυμορφισμών στο MC1R (melanocortine receptor-1) γονίδιο και την «αντιληπτή» ηλικία του προσώπου. Εξετάστηκαν (GWASs) 8.000.000 πολυμορφισμοί σε 2.693 Ολλανδούς από τη μελέτη Rotterdam, 599 Ολλανδούς από τη μελέτη Leiden Longevity και 1.173 Ευρωπαίους από τη μελέτη TwinsUK. Άτομα ομόζυγα για τον απλότυπο κινδύνου του MCR1 έδειχναν κατά μέσο όρο 2 χρόνια μεγαλύτερα από άτομα μη-φορείς. Η συσχέτιση εμφανίστηκε ανεξάρτητη από το χρώμα του δέρματος και το ιστορικό έκθεσης στην ηλιακή ακτινοβολία [Liu et al. 2016].



**Εικόνα 2.8.** Πρόκληση οξειδωτικού stress από τη UVB μέσω της δράσης της στον Nrf2 μεταγραφικό παράγοντα και στα Nrf-εξαρτώμενα γονίδια και η προστατευτική δράση της  $\alpha$ -MSH [Kokot et al. 2009].

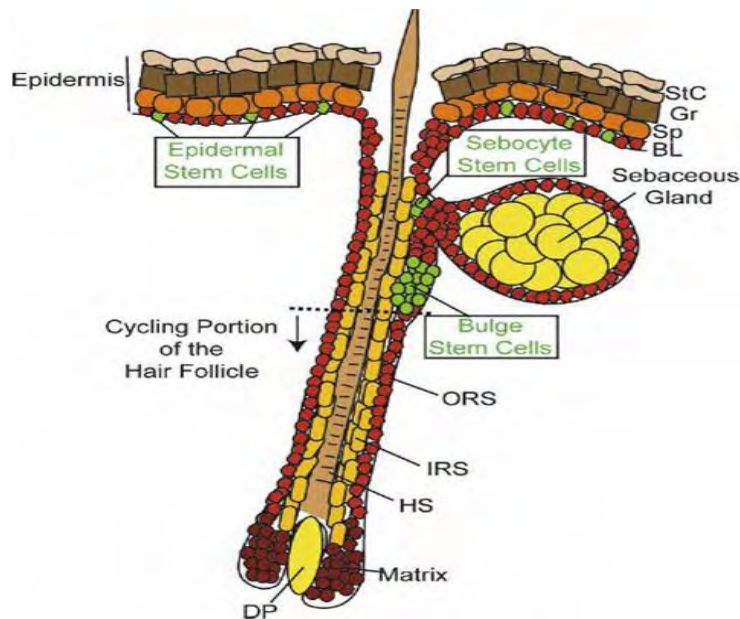
### **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΤΑ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ**

Το δέρμα σε έναν ενήλικα οργανισμό αποτελείται από μια μεγάλη ποικιλία κυττάρων διαφορετικής εμβρυολογικής προέλευσης. Κατά συνέπεια, πολλοί διαφορετικοί τύποι βλαστοκυττάρων τίθενται σε λειτουργία προκειμένου να αναπληρώσουν την απώλεια αυτών των κυττάρων στο δέρμα που επέρχεται είτε κατά τη φυσιολογική διεργασία της γήρανσης, είτε κατά τον τραυματισμό [Blanpain et al. 2006].

Μια σημαντική ερώτηση που αποτέλεσε το επίκεντρο του ενδιαφέροντος, είναι το πού βρίσκονται τα βλαστοκύτταρα εντός της επιδερμίδας, καθώς και ποιοί είναι οι δείκτες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευσή τους. Μια σειρά μελετών καταδεικνύουν ότι υπάρχουν τρεις κύριες θέσεις τους εντός της επιδερμίδας (**Εικ. 3.1**):

1. Βλαστοκύτταρα μεταξύ των τριχοθυλακίων της επιδερμίδας (interfollicular epidermal stem cells),
2. Βλαστοκύτταρα από την περιοχή bulge των τριχοθυλακίων (hair follicle bulge stem cells), και
3. Βλαστοκύτταρα των σμηγματογόνων αδένων (sebocyte stem cells) [Morasso et al., 2006].

Η ενδιάμεση των τριχοθυλακίων επιδερμίδα (interfollicular epidermis-IFE), περιέχει προγονικά κύτταρα τα οποία εξασφαλίζουν την ανανέωση του ιστού εν απουσία τραυματισμού, και η τριχοσμηγματογόνος μονάδα περιέχει πολυδύναμα βλαστοκύτταρα τα οποία ενεργοποιούνται είτε κατά την έναρξη του κύκλου της τρίχας, είτε κατά το τραύμα για αποκατάσταση της επιδερμίδας, είτε για την αναγέννηση του σμηγματογόνου αδένα [Blanpain et al., 2006α].



**Εικόνα 3.1. Διαμερίσματα στα οποία ανευρίσκονται τα βλαστοκύτταρα (SCs) στο δέρμα.** Η επιδερμίδα περιέχει μεταξύ των άλλων κυττάρων της και έναν πληθυσμό από βλαστοκύτταρα (πράσινο) τα οποία βρίσκονται εντός της βασικής της στιβάδας (basal layer– BL) καθώς και Transit Amplifying κύτταρα (κόκκινο). Τα κύτταρα εντός της βασικής στιβάδας, διαφοροποιούνται και κινούνται προς την επιφάνεια της επιδερμίδας σχηματίζοντας την ακανθωτή (spinous layer–Sp), κοκκιώδη (granular layer–Gr), και κερατινή στιβάδα (stratum corneum–StC). Πρόσφατες μελέτες τονίζουν ότι λόγω της εγγενούς τους ικανότητας να υφίστανται ασύμμετρες διαιρέσεις, πολλά κύτταρα της βασικής στιβάδας – αν όχι όλα – πιθανώς διαθέτουν ταυτόχρονα την ικανότητα αυτο-ανανέωσης και διαφοροποίησης. Ο **σημηματογόνος αδένας** περιέχει έναν μικρό αριθμό προγονικών κυττάρων που βρίσκονται κοντά ή στη βάση του αδένα. Τα προγονικά κύτταρα του σημηματογόνου αδένα παράγουν απογόνους ικανούς για πολλαπλασιασμό που διαφοροποιούνται προς τα γεμάτα λιπίδια σημηματογόνα κύτταρα. Τα βλαστοκύτταρα των τριχοθυλακίων (**hair follicle stem cells-HFSCs**) εντοπίζονται στην περιοχή που καλείται bulge και βρίσκεται κάτωθεν του σημηματογόνου αδένα. Τα HFSCs διαιρούνται με αργούς ρυθμούς και πολλαπλές μελέτες έχουν πιστοποιήσει ότι από τα κύτταρα αυτά προέρχεται και η αναγέννηση του τριχοθυλακίου. Τα κύτταρα αυτά εκφράζουν επιφανειακά κυτταρικά μόρια CD34 και VdR, όπως επίσης και τους μεταγραφικούς παράγοντες TCF3, Sox9, Lhx2 και NFATc1. Συγκεκριμένα, τα bulge κύτταρα δίνουν γένεση στα κύτταρα του εξωτερικού ελύτρου της τρίχας (outer root sheath-ORS), τα οποία πιστεύεται πως πυροδοτούν τα υψηλού αναπαραγωγικού δυναμικού κύτταρα του matrix τα οποία παράκεινται στην μεσεγχυματικής προέλευσης δερματική θηλή (dermal papilla-DP). Μετά από ταχύ πολλαπλασιασμό τα κύτταρα του matrix διαφοροποιούνται και σχηματίζουν τον αυλό της τρίχας, το εσωτερικό έλυτρο (inner root sheath- IRS) και το στέλεχος της τρίχας (hair shaft-HS) [Fuchs and Horsley 2008α].



Εκτός από αυτές τις κύριες θέσεις, υπάρχουν κι άλλες θέσεις στο δέρμα που υπάρχουν βλαστοκύτταρα (Εικ. 3.2) [Yan et al. 2015]. Στην παρούσα διπλωματική θα αναλύσουμε τα κυριότερα και πιο μελετημένα βλαστοκύτταρα του δέρματος.

The characteristics, function and related mechanisms of skin stem cells.

Stem cells and location	Characteristics	Function	Mechanisms – signaling cascades involved
KSCs; <i>near basement membrane in the basal layer</i>	Stem cell-like properties. Express ck5/14/15, p63, $\alpha6\beta4$ -, $\alpha3\beta1$ -integrins, and ABC transporters	Replenishment of mature keratinocytes in the epidermis	EGFR, Notch1, IGF-1/IGF-R1, immunoglobulin-like domains 1 (Lrig1), Myc, TGF- $\beta$ , BMI-1, I $\kappa$ B, IKK- $\alpha$ , IRF6, and SFN
bESCs; <i>in the bulge niche of the hair follicle</i>	Stem cell-like properties. Express CK5/14/15/19, CD200, p63, $\alpha6\beta4$ - and $\alpha3\beta1$ -integrins	Regeneration of epidermal cells in skin appendages or damaged epithelial tissue	Include sonic hedgehog (SHH/PTCH/GLI), EGFR, Wnt/ $\beta$ -catenin, Notch, NF- $\kappa$ B, BMP, BMI-1, SOX9 transcription factor, etc.
Immature melanocyte stem cells; <i>in the lower permanent portion of the hair follicle bulge region</i>	Stem cell-like properties, and down-regulated expression of MITF, SRY-box10 and SOX10 transcription factor	Give rise to epidermal and hair matrix melanocytes	Include Notch1 and 2, SCF/KIT; SDF-1/CXCR4, PAX3, MITF and Bcl-2, etc.
eNCSCs and adult SKPs; <i>in the bulge area and the dermal papillae of in human hair follicle specifically</i>	Stem cell-like properties and expression of stem cell-like markers (e.g. Nestin, sox9, nanog and oct-3/4)	Give rise to multiple skin cell lineages (e.g., melanocytes, neurons and smooth muscle cells)	Not clear
Stromal cells; including fibroblasts, DSCs, dMSCs, EPCs and pericytes; <i>located in human dermis and the vascular well of skin tissue</i>	Stem cell-like properties. Markers depend on the type of cell	Skin regeneration and cutaneous wound healing like the formation of new vessels	Via the regeneration and release of diverse paracrine factors. Signaling pathways are unclear
Unipotent progenitor cells; <i>near basement membrane and surrounding the cutaneous sebaceous gland in the hair follicle. Telocytes; in reticular dermis, around blood vessels, in the perifollicular sheath, outside the glassy membrane and surrounding sebaceous glands, arrector pili muscles</i>	Expression of CK5/14 and BLIMP1 c-kit/CD117; CD34 and vimentin	Regeneration of the sebaceous gland, and endocrine and hormonal regulation of skin integrity and sebum secretion. Involved in skin homeostasis, skin remodelling, skin regeneration and skin repair	Not clear. Organization of the extracellular matrix. Control of fibroblast, myofibroblast and mast cell activity

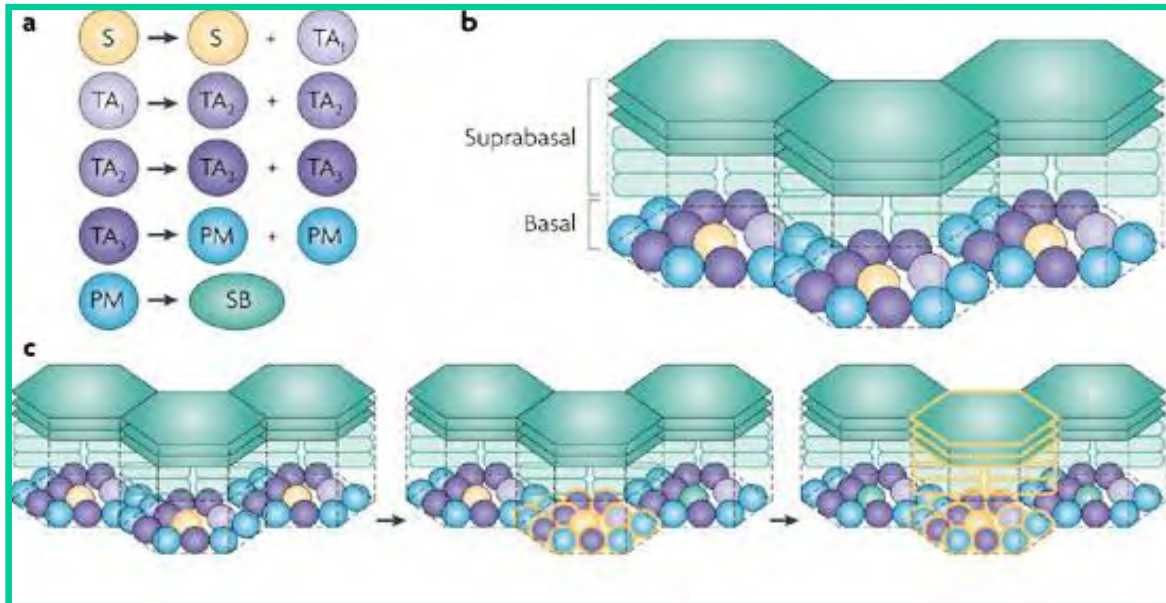
Keratinocyte stem cells (KSCs); Multipotent epithelial stem cells (bESCs); epidermal neural crest stem cells (eNCSCs); skin-derived precursors; dermal sheath cells (DSCs), multipotent dermal-resident mesenchymal stem cells (dMSCs); endothelial progenitor cells (EPCs); microphthalmia-associated transcription factor (MITF); SRY (sex determining region Y)-box 10; ATP-binding cassette (ABC) transporters; stem cell factor (SCF); CXC chemokine receptor 4 (CXCR4); Blymphocyte-induced maturation protein 1 (BLIMP1); stromal cell-derived factor-1 (SDF-1); bone morphogenic protein (BMP).

**Εικόνα 3.2. Χαρακτηριστικά, λειτουργίες και μηχανισμοί των βλαστοκυττάρων του δέρματος [Peng et al. 2015].**

### 3.1 ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΤΡΙΧΟΘΥΛΑΚΙΩΝ ΤΗΣ ΕΠΙΔΕΡΜΙΔΑΣ

Μολονότι η ύπαρξη βλαστοκυττάρων εντός της βασικής στιβάδας της επιδερμίδας έχει γίνει γνωστή προ πολλού, υπήρχε για μεγάλο διάστημα σύγχυση για το κατά πόσον όλα ή κάποια, και ποιά από τα κύτταρα της στιβάδας αυτής αποτελούσαν τον πληθυσμό των βλαστοκυττάρων. Παραδοσιακά, τα επιδερμδικά βλαστοκύτταρα χαρακτηρίζονταν από τον αργό ρυθμό ανανέωσής τους, καθώς και από την ικανότητά τους να σχηματίζουν τις επιδερμδικές αναπαραγωγικές μονάδες, γνωστές ως EPUs (epidermal proliferative units). Η επιδερμδική αναπαραγωγική μονάδα έχει οριστεί ως μια δομή που αποτελείται από μία βάση από 10 στερεά συνδεδεμένα βασικά κύτταρα τα οποία παράγουν μια στήλη από σταδιακά μεγαλύτερα και πιο επιπεδωμένα κύτταρα τα οποία καταλήγουν σε ένα μονήρες εξαγωνικό κύτταρο επιφανείας (**Εικ. 3.3**). Έτσι θεωρείται ότι υπάρχει ένα και μόνο βλαστοκύτταρο ανά EPU και ότι τα υπόλοιπα βασικά κύτταρα που καλούνται Transit Amplifying κύτταρα (TA cells), είναι κύτταρα που διαιρούνται ορισμένες φορές και κατόπιν εξέρχονται της βασικής στιβάδας και διαφοροποιούνται [Fuchs 2008].

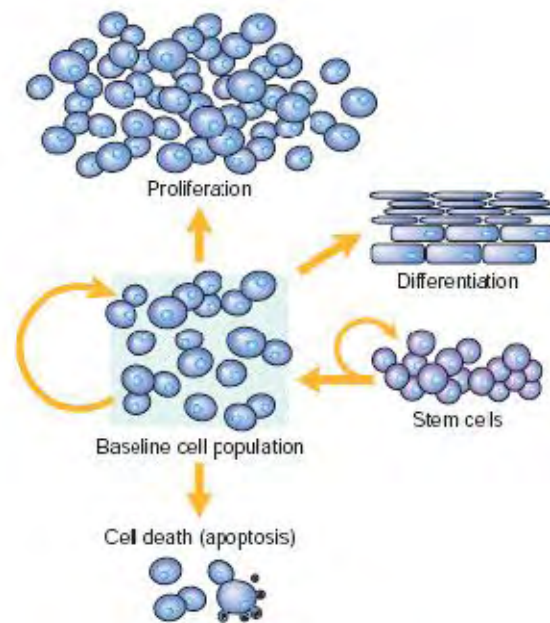




**Εικόνα 3.3. Το EPU μοντέλο οργάνωσης της επιδερμίδας.** (a) Οι κανόνες που υπαγορεύουν την τύχη του κυττάρου σύμφωνα με το EPU μοντέλο. Τα αυτο-ανανεούμενα βλαστοκύτταρα (κίτρινο) δίνουν γένεση σε έναν πληθυσμό transit - amplifying (TA) κυττάρων (μωβ) τα οποία μετά από τρεις κύκλους συμμετρικής διαιρέσεως (TA<sub>1</sub> ως TA<sub>3</sub>) εισέρχονται σε πρόγραμμα διαφοροποίησης (post-mitotic – PM) κύτταρα (μπλέ). Αυτά τα PM κύτταρα ακολούθως αποκολλούνται από τη βασική στιβάδα της επιδερμίδας και γίνονται υπερβασικά κύτταρα (suprabasal–SB) (πράσινο). Ας παρατηρηθεί ότι σε αυτό το μοντέλο η συμπεριφορά των TA κυττάρων προκαθορίζεται από το ιστορικό τους, για παράδειγμα, το TA<sub>1</sub> κύτταρο θα διαφοροποιηθεί έπειτα από δύο ακόμα κύκλους κυτταρικής διαίρεσης. (b) Το σχήμα αναπαριστά την οργάνωση στο χώρο των κυττάρων εντός μιας EPU με τα κύτταρα χρωματισμένα όπως στο σχήμα a. (c) Η προβλεπόμενη μοίρα των βλαστοκυττάρων σύμφωνα με το EPU μοντέλο σε ένα πείραμα στο οποίο το βλαστοκύτταρο που αποτελεί τον πυρήνα της EPU σημαίνεται, και η κυτταρική μοίρα ακολουθεί τους κανόνες που προαναφέρθηκαν. Τα κύτταρα που έχουν σημανθεί βρίσκονται εντός των κίτρινων γραμμών. Όταν όλα τα TA και τα διαφοροποιημένα κύτταρα σημανθούν, το μέγεθος του σημασμένου κλώνου παραμένει σταθερό [Jones and Wagers 2008, Jones and Simons 2008].

## Μηχανισμοί αναγέννησης του δέρματος

Η ομοιόσταση ενός φυσιολογικού ιστού περιλαμβάνει μια πολύ λεπτή ισορροπία ανάμεσα στα κύτταρα που εισέρχονται και στα κύτταρα που εξέρχονται από τον πληθυσμό. Η είσοδος νέων κυττάρων στον πληθυσμό ενός ιστού, όπως είναι το δέρμα, καθορίζεται από το ρυθμό του πολλαπλασιασμού τους, ενώ η έξοδος τους από αυτόν πραγματοποιείται είτε με το θάνατό τους, είτε με τη διαφοροποίηση σε άλλον τύπο κυττάρων [Kumar et al., 2009]. Προκειμένου να διατηρηθεί λοιπόν αυτή η ισορροπία, ο ιστός πρέπει να διαθέτει κύτταρα με δυνατότητες τόσο αυτο-ανανέωσης, όσο και διαφοροποίησης. Τα βλαστοκύτταρα και τα προγονικά κύτταρα πραγματοποιούν αυτές τις βιολογικές διαδικασίες αποτελώντας λειτουργικές μονάδες αναγέννησης τόσο κατά την φυσιολογική αναγέννηση όσο και κατά τη αποκατάσταση του δέρματος μετά από τραύμα (Εικ. 3.4) [Perryman and Sylvester 2006].

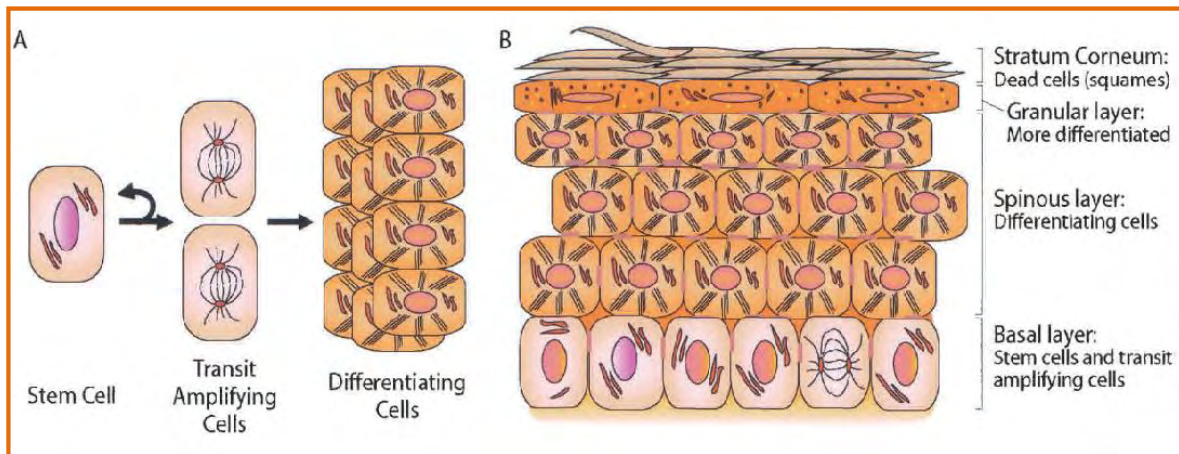


**Εικόνα 3.4. Ομοιοστατικοί μηχανισμοί ρύθμισης των κυτταρικών πληθυσμών στο δέρμα.** Ο αριθμός των κυττάρων είναι δυνατόν να μεταβληθεί μέσω των διακυμάνσεων συγκεκριμένων μεταβλητών. Αυτές συμπεριλαμβάνουν τους αυξημένους ή μειωμένους ρυθμούς παραγωγής νέων κυττάρων από τα βλαστοκύτταρα, τον κυτταρικό θάνατο που πραγματοποιείται μέσω απόπτωσης καθώς και τις αλλαγές στους ρυθμούς πολλαπλασιασμού ή διαφοροποίησης [Kumar et al., 2009].

## Ανανέωση της επιδερμίδας κατά τη διάρκεια ζωής του ενήλικα

Η επιδερμίδα ξεκινά στο έμβρυο ως μία μονή στιβάδα από κύτταρα εξωδερμικής προέλευσης τα οποία θα διαφοροποιηθούν προς τα κερατινοκύτταρα της επιδερμίδας. Τα κύτταρα της βασικής στιβάδας της ενδιάμεσης των τριχοθυλακίων επιδερμίδας (IFE) περιλαμβάνουν έναν πληθυσμό προγονικών κυττάρων τα οποία μπορούν είτε να διατηρήσουν το αναπαραγωγικό τους δυναμικό παραμένοντας στη βασική στιβάδα, είτε να επιστρατευτούν και να εισέλθουν σε σταδιακή διαφοροποίηση μετακινούμενα προς την επιφάνεια του δέρματος και δημιουργώντας κατ' αυτό τον τρόπο τις πολλαπλές υπερβασικές στιβάδες [Fuchs et al., 2008a].

Δύο διαφορετικοί μηχανισμοί έχουν προταθεί προκειμένου να εξηγηθεί το πώς μία μονήρης στιβάδα από ικανά για αναπαραγωγή βασικά κύτταρα μπορεί να δημιουργήσει μια πολύστιβη διαφοροποιημένη επιδερμίδα. Σύμφωνα με τον πρώτο μηχανισμό, ένας μικρός πληθυσμός από αργά διαιρούμενα βλαστοκύτταρα της βασικής στιβάδας δίνει γένεση σε έναν μεγάλο αριθμό από ταχέως πολλαπλασιαζόμενα transit amplifying (TA) κύτταρα τα οποία, μετά από λίγες διαιρέσεις, υφίστανται μείωση στην έκφραση των επιφανειακών τους εντεγκρινών, γεγονός που οδηγεί στην αποκόλλησή τους από τη βασική μεμβράνη και στην υπερβασική τους διαφοροποίηση (**Εικ. 3.5**). Αν και αυτό το μοντέλο έχει γίνει ευρέως αποδεκτό, πρόσφατες μελέτες δείχνουν πως τα βασικά κύτταρα της επιδερμίδας είναι ικανά επίσης να καταναείμουν σημαντικές ρυθμιστικές πρωτεΐνες σε διακριτές περιοχές. Η διαδικασία αυτή οδηγεί σε διαιρέσεις οι οποίες κατανομούν ασύμμετρα τις πρωτεΐνες που καθορίζουν τον φαινότυπο του βλαστοκυττάρου έναντι του φαινοτύπου του υπό διαφοροποίηση κυττάρου στα δύο θυγατρικά κύτταρα [Lechler et al., 2005, Clayton et al., 2007]. Επιπλέον, επί απουσίας της β1 εντεγκρίνης ή της α-κατενίνης, οι ασύμμετρες διαιρέσεις δεν πραγματοποιούνται σωστά, γεγονός που τονίζει τη σημαντικότητα του ρόλου της βασικής μεμβράνης και των διακυτταρικών συνδέσεων σε αυτή τη διαδικασία [Lechler and Fuchs 2005].

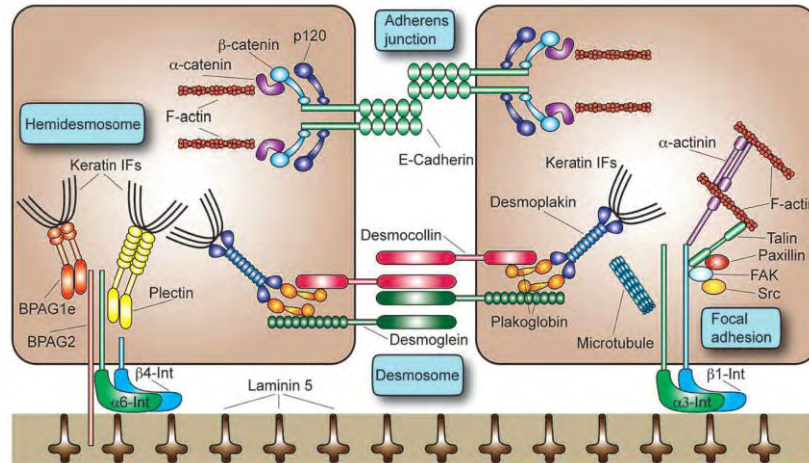


**Εικόνα 3.5. Αποίκιση του δέρματος από τα βλαστοκύτταρα. (Α)** Τα βλαστοκύτταρα αυτο-ανανεώνονται και επίσης παράγουν τα transit amplifying κύτταρα, τα οποία διαιρούνται και διαφοροποιούνται. **(Β)** Τα transit amplifying κύτταρα στη βασική στιβάδα παράγουν διαρκώς απογόνους οι οποίοι μετακινούνται προς την επιφάνεια της επιδερμίδας και εν τέλει αποφολιδώνονται [Alonso and Fuchs 2003].

Τα βλαστοκύτταρα της βασικής στιβάδας της επιδερμίδας κατασκηνώνουν επάνω στη βασική μεμβράνη η οποία είναι πλούσια σε εξωκυττάρια ουσία και αυξητικούς παράγοντες και διαχωρίζει την επιδερμίδα από το υποκείμενο χόριο [Fuchs 2009]. Ανεξάρτητα από το ρόλο που διαδραματίζει στον καθορισμό της μοίρας των επιδερμικών κυττάρων με τη συμμετοχή της στη διαδικασία της ασύμμετρης διαίρεσης, η βασική μεμβράνη είναι εξαιρετικά σημαντική επίσης ως προς τη διατήρηση του αναπαραγωγικού δυναμικού της επιδερμίδας. Αν και οι φυσικές και μηχανικές της ιδιότητες είναι πιθανόν να επηρεάσουν από μόνες τους την ικανότητα πολλαπλασιασμού των κυττάρων της βασικής στιβάδας, η βασική μεμβράνη διαθέτει επίσης ένα πλούσιο δίκτυο από μόρια και αυξητικούς παράγοντες που παρέχουν ένα σύνθετο ρεπερτόριο από διεγερτικά ερεθίσματα για τα βασικά κύτταρα. Σε αυτά συμπεριλαμβάνεται η λαμινίνη 5 (Εικ. 3.6), η οποία προωθεί την αγκυροβόληση και τη σηματοδότηση για μετανάστευση λόγω της ικανότητάς της να δρα ως προσδέτης για τα πλούσια σε αββ4-ιντεγκρίνη ημιδεσμοσώματα και τα πλούσια σε α3β1-ιντεγκρίνη focal adhesions (εστιακές συνάψεις-FAs) [Fuchs 2008]. Τα ανθρώπινα επιδερμικά κύτταρα που βρίσκονται σε καλλιέργεια και χαρακτηρίζονται από υψηλότερα επίπεδα έκφρασης της β1 ιντεγκρίνης έχουν μεγαλύτερο δυναμικό πολλαπλασιασμού *in vitro* εν σχέσει με τα υπόλοιπα κύτταρα του πληθυσμού [Owens and Watt 2003]. Με την ενεργοποίηση της α3β1 ιντεγκρίνης ένας καταρράκτης κινασών που συμπεριλαμβάνει τη FAK (focal adhesion tyrosine kinase) και την Src τυροσινική κινάση απελευθερώνεται και με αυτό τον τρόπο όχι μόνον ενεργοποιείται



το Ras - MAPK σηματοδοτικό μονοπάτι όπως θα δούμε και αργότερα, αλλά επίσης επάγεται η ανανέωση των focal adhesions και η μετανάστευση των επιδερμικών κυττάρων [Guasch et al. 2007].



**Εικόνα 3.6** Σημαντικά συστατικά του κυτταροσκελετού των κερατινοκυττάρων της βασικής στιβάδας της επιδερμίδας και η σχέση τους με τη βασική μεμβράνη [Fuchs and Nowak 2008β].

Σε έναν ώριμο οργανισμό, η επιδερμίδα υφίσταται ομοιοστατική ρύθμιση καθώς τα κύτταρα της βασικής στιβάδας περιοδικά εισέρχονται σε πρόγραμμα τελικής διαφοροποίησης και μετακινούνται προς την επιφάνεια κατά κατακόρυφες στήλες (Εικ. 3.7). Η μετάβαση από κερατινοκύτταρο της βασικής στιβάδας προς κερατινοκύτταρο της ακανθωτής στιβάδας είναι ένα σημείο κλειδί στο πρόγραμμα τελικής διαφοροποίησης [Blanpain and Fuchs 2009].

Καθώς τα κερατινοκύτταρα εισέρχονται στην ακανθωτή στιβάδα διακόπτουν την έκφραση των γονιδίων τα οποία κωδικοποιούν την κερατίνη 5 (KRT5 ή αλλιώς K5) και την κερατίνη 14 (K14). Αυτές οι πρωτεΐνες των άφθονων ενδιάμεσων ινιδίων αποτελούν δείκτες των στιβαδοποιημένων πλακωδών επιθηλιακών κυττάρων που διαθέτουν ακόμα αναπαραγωγικό δυναμικό. Ταυτόχρονα, ξεκινούν να εκφράζονται οι κερατίνες K1 και K10 γεγονός το οποίο οδηγεί στη δημιουργία ενός ακόμα πιο ισχυρού δικτύου ενδιάμεσων ινιδίων το οποίο συνδέεται με τα δεσμοσώματα. Ο προκύπτων κυτταροσκελετός ενισχύει τις διακυτταρικές συνδέσεις και παρέχει προστασία έναντι του μηχανικού stress που ασκείται στην επιφάνεια της επιδερμίδας [Fuchs and Green 1980].

Τα δεσμοσώματα τα οποία συνδέονται με τις κερατίνες K1 και K10 είναι ιδιαίτερα άφθονα στα υπερβασικά κύτταρα, ενώ τα κύτταρα της βασικής στιβάδας

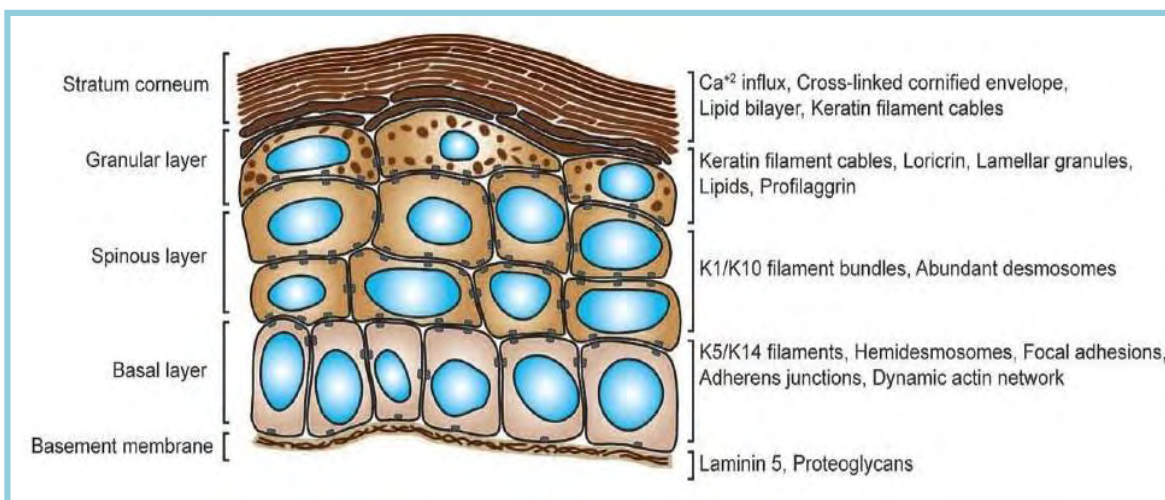
διαθέτουν ένα λιγότερο ισχυρό δίκτυο αποτελούμενο από τα δεσμοσώματα και τις κερατίνες K5 και K14. Τα βασικά κύτταρα αξιοποιούν το πιο δυναμικό δίκτυο από μικροσωληνίσκους και ινίδια ακτίνης του κυτταροσκελετού τους που συνδέονται μέσω της β- και α-κατενίνης με τις διαμεσολαβούμενες από την E-καντχερίνη διακυτταρικές συνδέσεις (adherens junctions), επιπροσθέτως των διαμεσολαβούμενων από την αβ1-ιντεγκρίνη συνδέσεων μεταξύ των κυττάρων και της εξωκυττάριας ουσίας [Blanpain and Fuchs 2006a].

Τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας εκφράζουν κάποιες επιπρόσθετες δομικές πρωτεΐνες οι οποίες εναποτίθενται κάτω από την κυτταροπλασματική μεμβράνη [Blanpain and Fuchs 2009]. Στα τελικά στάδια της διαφοροποίησης τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας πεθαίνουν, ενώ η απελευθέρωση λυσοσωμικών ενζύμων καταλύει ένα είδος πολυμερισμού των κοκκίων κερατοϋαλίνης και των νηματίων κυτταροκερατίνης προς σχηματισμό της άμορφης μάζας της επιφανειακής κερατίνης. Τα κύτταρα της κοκκιώδους στιβάδας παράγουν ένα υδρόφοβο γλυκοφωσfolιπίδιο, το οποίο δρα ως μεσοκυττάριο «τσιμέντο», παρεμποδίζει το διασκορπισμό των επιφανειακών φολίδων και καθιστά την επιφάνεια του δέρματος αδιαπέραστη από το νερό [Wheater et al. 2002]. Εδώ παράγονται και οι πρωτεΐνες φιλαγκρίνη και λορικρίνη [Blanpain and Fuchs 2006a].

Με το πέρας της τελικής διαφοροποίησης, τα νεκρά επιθηλιακά κύτταρα βρίσκονται πακεταρισμένα με λιπίδια στο εξωτερικό τους μέρος ενώ το εσωτερικό τους μέρος καταλαμβάνεται πλήρως από μια άμορφη μάζα κερατίνης. Παρά το γεγονός ότι τα κύτταρα αυτά σταδιακά αποπίπτουν από την επιφάνεια του δέρματος και αντικαθίστανται από κύτταρα που βρίσκονται υπό διαφοροποίηση στις κατώτερες στιβάδες, προσωρινά δρουν ως ο προστατευτικός φραγμός που εμποδίζει τόσο την είσοδο των μικροβίων στον οργανισμό όσο και την απώλεια των σωματικών υγρών [Blanpain and Fuchs 2009].

Η ικανότητα των βλαστοκυττάρων της επιδερμίδας για αυτο-ανανέωση είναι πολύ μεγάλη και, εντός τεσσάρων εβδομάδων, ένα κύτταρο της βασικής στιβάδας της επιδερμίδας έχει υποστεί τελική διαφοροποίηση και έχει εξέλθει στην επιφάνεια του δέρματος [Fuchs 2008].





**Εικόνα 3.7. Η κυτταρική αρχιτεκτονική της επιδερμίδας.** Εδώ απεικονίζονται οι αλλαγές που συμβαίνουν κατά το πρόγραμμα κυτταρικής διαφοροποίησης της επιδερμίδας. Απεικονίζονται η βασική μεμβράνη, η βασική ακανθωτή και κοκκιώδης στιβάδα, καθώς και η εξωτερική κερατίνη στιβάδα. Στα δεξιά, βλέπουμε τα σημαντικότερα δομικά συστατικά και τα συστατικά του κυτταροσκελετού που χαρακτηρίζουν κάθε μία από αυτές τις στιβάδες [Fuchs and Nowak 2008β].

## Σηματοδότηση κατά τη διαφοροποίηση της επιδερμίδας

Παρά το γεγονός ότι οι μορφογενετικές αλλαγές οι οποίες σχετίζονται με τη στιβαδοποίηση του δέρματος έχουν μελετηθεί εκτεταμένα, η κατανόηση των μοριακών μηχανισμών που ενορχηστρώνουν την διαφοροποίηση του δέρματος παραμένει έως σήμερα σε πρώιμο στάδιο. Οι πολυπληθείς μελέτες που έχουν διεξαχθεί σε ποντίκια έχουν οδηγήσει στην αναγνώριση πολλαπλών σηματοδοτικών μονοπατιών τα οποία είναι απαραίτητα για την σωστή στιβαδοποίηση της επιδερμίδας και την ορθή λειτουργία της ως προστατευτικού φραγμού [Koster and Roop 2007].

Τα σηματοδοτικά αυτά μονοπάτια συμπεριλαμβάνουν το Notch, το MAPK (mitogen-activated protein kinase), καθώς και τους μεταγραφικούς παράγοντες p63, τον NF-κB (nuclear factor-κB), την AP2 οικογένεια, τους μεταγραφικούς ρυθμιστές C/EBP (CCAAT/enhancer-binding protein) τον IRF6 (interferon regulatory factor 6), τον GRHL3 (grainyhead-like 3) και τον KLF4 (Kruppel-like factor 4). Οι σχετικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των σηματοδοτικών αυτών μονοπατιών και των μεταγραφικών παραγόντων έχουν μόλις αρχίσει να διαλευκάνονται [Blanpain and Fuchs 2009].

Επιπλέον της ετερογένειας στην διατήρηση της σήμανσης των κυττάρων της βασικής στιβάδας, η έκφραση της β1 ιντεγκρίνης παρουσιάζει επίσης διαβάθμιση στην ανθρώπινη επιδερμίδα, καθώς όπως είδαμε, αυξημένα επίπεδά της αντιστοιχούν σε κύτταρα με αυξημένο αναπαραγωγικό δυναμικό, ενώ αποτελεί και αυτή έναν μη ειδικό δείκτη για τα βλαστοκύτταρα [Ghazizadeh and Taichman 2001]. Μολαταύτα, παρ' όλο που βασικά κύτταρα στα οποία έχει γίνει απαλειφή της β1 ιντεγκρίνης αποτυγχάνουν να διατηρήσουν την ικανότητα αναπαραγωγής τους in vivo, αυτό έχει εν μέρει τουλάχιστον αποδοθεί σε συσχετιζόμενα ελαττώματα στην εναπόθεση και οργάνωση της βασικής μεμβράνης [Blanpain et al. 2006β].

Ένα στοιχείο που καθιστά την β1 ιντεγκρίνη ως ένα ιδιαίτερα ενδιαφέρον μόριο, είναι ο ρόλος που διακατέχει στη διαδικασία της ασύμμετρης διαίρεσης. Είναι πιθανόν κατά την ασύμμετρη διαίρεση, τα βλαστοκύτταρα να είναι ικανά να δημιουργούν ένα θυγατρικό κύτταρο με υψηλά επίπεδα αβ1 ιντεγκρίνης το οποίο διατηρεί την ικανότητα αυτοανανέωσής του, καθώς και ένα με χαμηλά επίπεδα το οποίο και διαφοροποιείται. Ενδιαφέρον παρουσιάζει και η συσχέτισή της με τη Notch σηματοδότηση. Όταν η σηματοδότηση από τον Notch καταλήγει στο διαχωρισμό της ενδοκυττάριας περιοχής του Notch, ο NICD απελευθερώνεται προκειμένου να σχηματίσει έναν διμερή μεταγραφικό παράγοντα μαζί με την RBPj DNA-binding πρωτεΐνη, γεγονός που καταλήγει σε μεταγραφικές αλλαγές απαραίτητες για την αποκόλληση από τη βασική στιβάδα και την διαφοροποίηση προς κύτταρο της ακανθωτής στιβάδας [Blanpain et al. 2006β]. Αυτά τα ευρήματα καθιστούν δύσκολη τη διάκριση μεταξύ της επίδρασης αποκλειστικά της β1 ιντεγκρίνης και της επίδρασης των λοιπών κυτταρικών αλλαγών που διαδραματίζονται [Fuchs 2008].

Κεντρικό σημείο στη διαδικασία λήψης αποφάσεων αποτελεί η μετάβαση από τη βασική στην ακανθωτή στιβάδα με τις μορφολογικές και λειτουργικές αλλαγές που συνεπάγεται για το κερατινοκύτταρο. Αυτή η μετάβαση ελέγχεται από τον p63 και από το Notch σηματοδοτικό μονοπάτι. Επί απουσίας του p63 σε ποντίκια, η επιδερμίδα αποτυγχάνει να στιβαδοποιηθεί και μόνο λίγα και πτωχά διαφοροποιημένα κύτταρα παραμένουν προσκολλημένα στην επιφάνεια του εμβρύου. Διαφαίνεται πως ο p63 είναι παράγοντας που προαπαιτείται για την εκκίνηση του προγράμματος στιβαδοποίησης και για την διατήρηση του δυναμικού αυτο-ανανέωσης των διαφόρων επιθηλιακών βλαστοκυττάρων [Senoo et al. 2007].

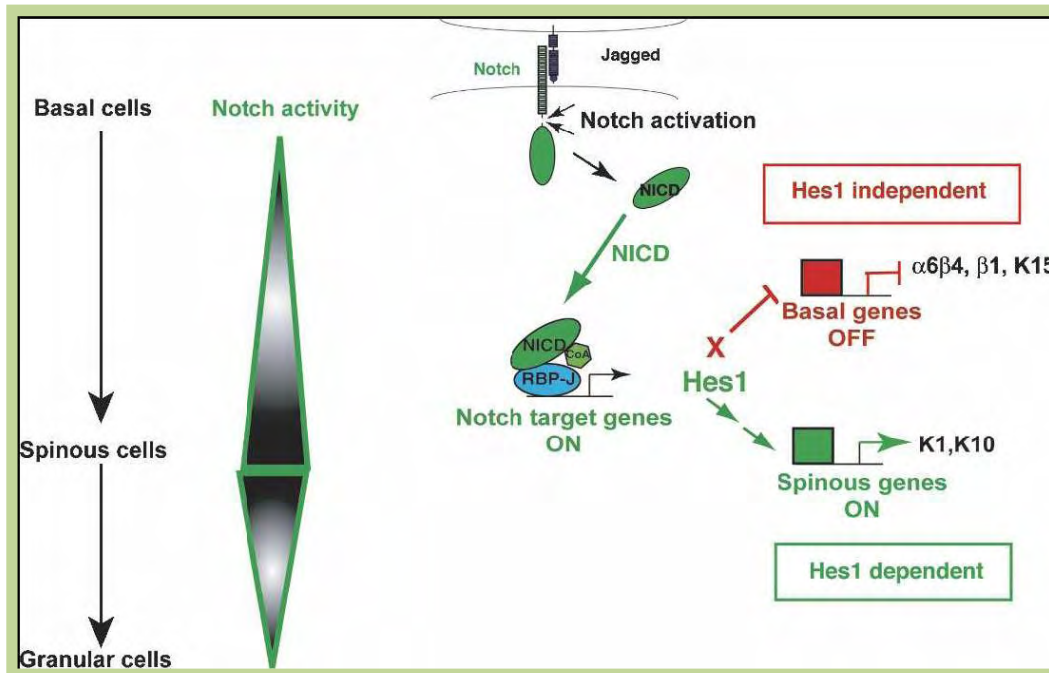
Το p63 είναι μέλος της οικογένειας πρωτο-ογκογονιδίων του p53 το οποίο τυπικά δρα περιορίζοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό μέσω πρόκλησης παύσης του κυτταρικού κύκλου ή απόπτωσης. Η ΔN ισομορφή του p63 εκφράζεται στα κύτταρα της βασικής στιβάδας. Η αυξημένης βαρύτητας σημασία του στη βιολογία της επιδερμίδας αναδείχτηκε όταν δυο ερευνητικές ομάδες ανακάλυψαν ότι ποντίκια με έλλειψη του p63 αντιμετωπίζουν σοβαρά προβλήματα στη δημιουργία της επιδερμίδας τους [Mills et al. 1999, Yang et al. 1999]. Οι δύο αυτές ομάδες διαφωνούσαν όμως ως προς το κατά πόσον η προκύπτουσα λεπτή επιδερμίδα ήταν αποτέλεσμα ελαττωματικής ανανέωσης των βλαστοκυττάρων [Yang et al. 1999], ή απουσία διαφοροποίησης σε συγκεκριμένη κυτταρική σειρά [Mills et al. 1999], ενώ

πρόσφατες μελέτες δεν έχουν καταφέρει να διαλευκάνουν αυτό το ζήτημα [Fuchs 2008].

Νεότερα πειράματα υποδεικνύουν πως η επίδραση του p63 στα κύτταρα της βασικής στιβάδας είναι αποτέλεσμα της ικανότητάς του να αναστέλλει τον p53, γεγονός που συνεπάγεται ενίσχυση της κυτταρικής επιβίωσης και μακροζωίας, ενώ οι επιδράσεις του στη διαφοροποίηση είναι ανεξάρτητες του p53 [Fuchs 2008].

Μόλις τα κύτταρα εξέλθουν της βασικής στιβάδας, ο p63 ελαττώνεται μέσω ενός μηχανισμού ο οποίος δεν είναι απολύτως ξεκαθαρισμένος, αλλά φαίνεται ότι έχει να κάνει με σηματοδότηση μέσω διαμεμβρανικών υποδοχέων του Notch που προκαλούν καταστολή του p63 υπερβασικά και αναστολή του πολλαπλασιασμού. Παρομοίως, σε πειράματα που κατεστάλη ο Delta1, ένας προσδέτης του Notch που ανευρίσκεται στη βασική στιβάδα, παρατηρήθηκε εξεσημασμένος πολλαπλασιασμός καθώς και καταστολή της διαφοροποίησης [Estrach et al. 2008].

Το σηματοδοτικό μονοπάτι του Notch διαδραματίζει λοιπόν σημαντικότατο ρόλο κατά τη διάρκεια των πρώιμων σταδίων διαφοροποίησης των βασικών κυττάρων προς ακανθωτά. Η μετατροπή προς κύτταρο της ακανθωτής στιβάδας διακόπτεται πλήρως επί απαλοιφής του RBP-J, μιας προσδένουσας DNA πρωτεΐνης, η οποία σχηματίζει έναν διμερή μεταγραφικό παράγοντα με το NICD (Notch intracellular domain) προκειμένου να μεταδίδει την Notch σηματοδότηση στον πυρήνα. Η μετατροπή προς ακανθωτό κύτταρο επίσης τροποποιείται με απώλεια του Hes1 που αποτελεί ένα από τα κυριότερα γονίδια-στόχους του Notch στην ανθρώπινη επιδερμίδα (**Εικ. 3.8**). Αντιθέτως, υπερβολική σηματοδότηση από τον Notch καταλήγει στη μετατροπή των βασικών κυττάρων προς ακανθωτά [Blanpain et al. 2006β]. Μελέτες από τους Lee et al. (2007) υποδεικνύουν πως ο υπερβολικός πολλαπλασιασμός εντός της επιδερμίδας επί καταστολής της Notch σηματοδότησης πιθανόν να είναι απότοκος μη κυτταρικών αυτόνομων αλλαγών στο υποκείμενο χόριο [Fuchs 2008]. Η Notch σηματοδότηση φαίνεται επίσης να δρα εν μέρει μέσω επίδρασης επί της έκφρασης των C/EBP DNA-binding πρωτεϊνών οι οποίες δρουν συνεργικά με τους μεταγραφικούς παράγοντες της AP2 οικογενείας προκειμένου να ρυθμίσουν τη δέσμευση του κυττάρου προς τελική διαφοροποίηση [Blanpain et al. 2009].



**Εικόνα 3.8. Ο ρόλος της σηματοδότησης Notch στη μετατροπή των κυττάρων της βασικής στιβάδας σε κύτταρα της ακανθωτής στιβάδας της επιδερμίδας.** Μετά από σύνδεσή του με τον κατάλληλο προσδέτη, τον Jagged, ο Notch ενεργοποιείται, απελευθερώνοντας τον NICD. Ο τελευταίος διαδραματίζει διττό ρόλο όσον αφορά τη μετάβαση του κερατινοκυττάρου από τη βασική στην ακανθωτή στιβάδα. Αφ' ενός, ο NICD αλληλεπιδρά με τον RBP-J προκειμένου να προκαλέσει την έκφραση του Hes1, ενός τυπικού γονιδίου-στόχου. Το γεγονός αυτό οδηγεί στην επαγωγή γονιδίων που η έκφρασή τους χαρακτηρίζει την ακανθωτή στιβάδα καθώς κωδικοποιούν εξειδικευμένες πρωτεΐνες διαφοροποίησης. Αφ' ετέρου, ο NICD προκαλεί την καταστολή γονιδίων χαρακτηριστικών της βασικής στιβάδας στα οποία περιλαμβάνονται τα κωδικοποιούντα τις ιντεγκρίνες, και με αυτό τον τρόπο καθίσταται δυνατή η αποκόλληση των βασικών κυττάρων από τη βασική στιβάδα μέσω ενός μηχανισμού εξαρτώμενου από το Hes1 [Blanpain et al. 2006β].

Η συμμετοχή των microRNAs (miRNAs) παρέχει μια περαιτέρω βαθμίδα πολυπλοκότητας σε αυτά τα δίκτυα μεταγραφικής ρύθμισης. Τα miRNAs φαίνεται πως επιδρούν στην εύρυθμη λειτουργία του κυκλώματος σηματοδότησης το οποίο ωθεί ένα κύτταρο της βασικής στιβάδας προς τελική διαφοροποίηση. Το miR-203 είναι ένα άφθονο και εξελικτικά διατηρημένο miRNA το οποίο εκφράζεται στις υπερβασικές στιβάδες ταυτόχρονα με την επιδερμική στιβαδοποίηση και διαφοροποίηση. Η πρόωρη έκφραση του miR-203 στα βασικά κύτταρα επάγει την πρόωμη διαφοροποίησή τους και ελαχιστοποιεί το αναπαραγωγικό δυναμικό τους.

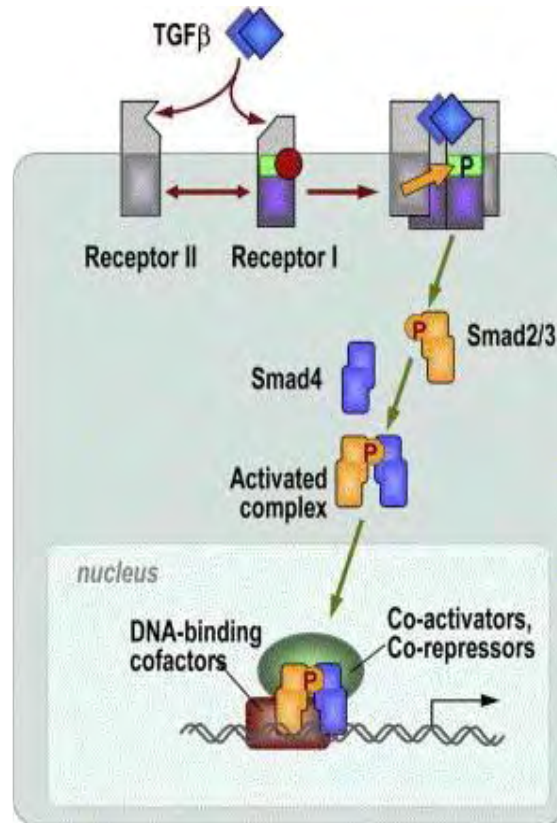
Αντιθέτως, όταν το μόριο αυτό απουσιάζει ή ανευρίσκεται σε μειωμένες ποσότητες, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός δεν περιορίζεται μόνο στη βασική στιβάδα. Ιδιαίτερα ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι ένας από τους στόχους του miR-203 είναι το mRNA του p63, η μετάφραση του οποίου αυξάνεται στα υπερβασικά κύτταρα επί απουσίας του miR-203, και καταστέλλεται στα βασικά κύτταρα όταν το miR-203 εκφράζεται πρόωρα. Οι μελέτες αυτές οδηγούν στο συμπέρασμα πως το μόριο αυτό δρα εν μέρει παρεμποδίζοντας την έκφραση στα υπερβασικά κύτταρα στόχων - κλειδιών της βασικής στιβάδας και ενισχύοντας τη δέσμευση προς διαφοροποίηση [Yi et al. 2008]

Η σηματοδότηση μέσω υποδοχέων με δραστηριότητα τυροσινικής κινάσης (RTKs), των υποδοχέων IGFR (insulin growth factor receptor), και του υποδοχέα EGFR (epidermal growth factor receptor) ρυθμίζει επίσης την αναπαραγωγική συμπεριφορά στην επιδερμίδα. Τόσο οι προσδέτες του EGFR, όσο και αυτοί του IGFR λειτουργούν ως μιτογόνα για τα κερατινοκύτταρα *in vitro*. Η υπερέκφραση του EGF μπορεί να οδηγήσει σε πάχυνση της επιδερμίδας, ενώ η απαλειφή του Mig6, ενός μορίου που εξασθενεί τη σηματοδότηση από τον EGFR, οδηγεί σε υπερβολική αύξηση του ρυθμού αναπαραγωγής των κερατινοκυττάρων και αυξημένη προδιάθεση για ογκογένεση. Παρομοίως, ο Lrig1, ένας αρνητικός ρυθμιστής της αντίδρασης στον EGFR, φαίνεται πως μπορεί να καταστείλει τον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων *in vitro* [Jensen and Watt 2006].

Το θέμα γίνεται ακόμα πιο σύνθετο, όταν υπεισέρχεται και το σηματοδοτικό μονοπάτι του TGFβ (**Εικ. 3.9**), η λειτουργία του οποίου μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα τα επιδερμικά κερατινοκύτταρα να αποσυρθούν παροδικά από τον κυτταρικό κύκλο μέσω επαγωγής των αναστολέων της εξαρτώμενης από την G1 κυκλίνη κινάσης (cdk) [Massague and Gomis 2006]. Αντίστροφα, η απώλεια της έκφρασης του TGFβ, η έκφραση ενός ανταγωνιστικού υποδοχέα του TGFβ (TGFβRII), καθώς και η περιστασιακή απαλειφή του TGFβRII γονιδίου στο δέρμα οδηγεί σε επιδερμική υπερπλασία. Παρόλα αυτά, ο TGFβ δύναται επίσης να προωθήσει την απόπτωση των κερατινοκυττάρων, και, ως αποτέλεσμα, σε δέρμα όπου έχει γίνει απαλοιφή του TGFβRII, η υπερπλασία αντισταθμίζεται από την αυξημένη απόπτωση και δεν παρατηρείται διαταραχή της ομοιόστασης [Fuchs et al. 2008]. Η ομοιόσταση που επιτυγχάνεται στην TGFβRII-null επιδερμίδα είναι όμως επισφαλής, καθώς όταν συμβαίνει μια επιπρόσθετη γενετική αλλοίωση, είναι πολύ πιθανή η ανάπτυξη καρκινωμάτων εκ πλακώδους επιθηλίου [Guasch et al. 2007].

Συναφής με το ρόλο της TGFβ σηματοδότησης στην πρόκληση κακοήθειας, η απαλοιφή του SMAD4 στην επιδερμίδα καταλήγει σε υπερβολικό πολλαπλασιασμό των επιδερμικών κερατινοκυττάρων και την ανάπτυξη καρκινωμάτων εκ πλακώδους επιθηλίου με την πάροδο του χρόνου. Ο SMAD4 είναι ο συμπαράγοντας στα σηματοδοτικά μονοπάτια τόσο του TGFβ όσο και της BMP (bone morphogenetic protein) καθώς μετά την ενεργοποίησή του διαμεσολαβεί στην μεταγραφή που εξαρτάται και από τους δύο παράγοντες. Παρόλα αυτά, μολονότι ο SMAD4 έχει σχέση και με τα δύο μονοπάτια, η απαλοιφή του υποδοχέα ΙΑ της BMP (BMPRIΑ) δεν έχει αποκαλύψει ελαττώματα στην ομοιόσταση της επιδερμίδας, αν και έχει

κάποιες επιπτώσεις στα τριχοθυλάκια. Συνεπώς, εκτός εάν η λειτουργική επάρκεια προκύπτει λόγω του επιπρόσθετου BMP receptor 1B και έχει αποκρύψει μια σχέση-κλειδί της BMP σηματοδότησης στην BMPR1A- null επιδερμίδα, οι επιδράσεις του SMAD4 είναι πολύ πιθανό να διαμεσολαβούνται από τη TGFβ σηματοδότηση σε αυτόν τον ιστό [Fuchs and Horsley 2008α].

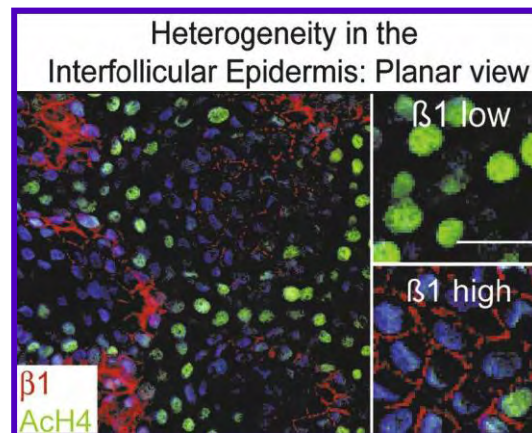


**Εικόνα 3.9. Το σηματοδοτικό μονοπάτι του TGFβ.** Ο παράγοντας TGFβ προσδένεται στον τύπου II υποδοχέα του και αυτή η πρόσδεση επάγει την επιστράτευση και του υποδοχέα τύπου I, τον οποίο ο υποδοχέας τύπου II φωσφορυλιώνει και ενεργοποιεί. Ο υποδοχέας τύπου I με τη σειρά του φωσφορυλιώνει τους δεσμευμένους στον υποδοχέα μεταγραφικούς παράγοντες Smad (Smad2/3), απελευθερώνοντάς τους με αυτό τον τρόπο στο κυτταρόπλασμα, γεγονός που τους επιτρέπει να μετακινηθούν προς τον πυρήνα. Ο Smad4 δρα σε συνέργεια με τους ενεργοποιημένους Smads προκειμένου να τους βοηθήσει να εκτελέσουν τη λειτουργία τους. Στον πυρήνα, οι ενεργοποιημένες πρωτεΐνες σχηματίζουν συμπλέγματα τα οποία ρυθμίζουν τη μεταγραφή μιας ποικιλίας γονιδίων [Massague et al. 2006].



Δεδομένου του γεγονότος ότι οι RTKs ενισχύουν και ο TGF-β αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό στην επιδερμίδα, δεν προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι ο c-Myc, ένας από τους μεταγραφικούς παράγοντες στόχους τους, κατέχει σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της ομοιόστασης του δέρματος. Λειτουργικές μελέτες επιβεβαιώνουν πως η υπερέκφραση του c-Myc στην επιδερμίδα καταλήγει σε αύξηση του πολλαπλασιασμού, ότι ο ενδογενής c-Myc είναι απαραίτητος για την φυσιολογική ομοιόσταση του δέρματος, αλλά και ότι η επιδερμίδα όπου η επίδραση του c - Myc δεν είναι δυνατή, καθίσταται ανθεκτική σε Ras-διαμεσολαβούμενη, χημικά επαγόμενη ογκογένεση [Fuchs and Horsley 2008a].

Οι τροποποιήσεις των ιστονών έχουν αναδειχθεί το τελευταίο διάστημα ως επιγενετικοί ρυθμιστές της διαφοροποίησης του δέρματος. Για παράδειγμα, οι Frye και Watt παρατήρησαν ότι τα πλούσια σε β1-ιντεγκρίνη κύτταρα σχετίζονται με μειωμένα επίπεδα ακετυλίωσης της ιστόνης H4 (**Εικ. 3.10**) [Frye et al. 2007]. Αυτό ισχύει και για τα ποντίκια, όσον αφορά τόσο την ενδιάμεση των τριχοθυλακίων επιδερμίδα, όσο και τα τριχοθυλάκια. Η ακετυλίωση των ιστονών γενικά σχετίζεται με ενεργό γονιδιακή έκφραση και το ίδιο συμβαίνει με την έκφραση του c-Myc. Σε μελέτες τους οι Watt et al., πρότειναν ότι το γονίδιο c-Myc συμμετέχει στη μετατροπή των βλαστοκυττάρων σε transit amplifying κύτταρα και διαπίστωσαν πως η αυξημένη έκφραση του c-Myc στα κύτταρα της βασικής στιβάδας οδηγεί σε ενίσχυση της ακετυλίωσης της ιστόνης H4, καθώς και σε επιπρόσθετες τροποποιήσεις στη λυσίνη 20 της ιστόνης H4. Αυτά τα δεδομένα οδήγησαν στην άποψη ότι η ενεργοποιημένη μορφή του c-Myc πιθανόν να επάγει μια κατάσταση της χρωματίνης η οποία επιτρέπει την διαφοροποίηση των κυττάρων της επιδερμίδας [Fuchs 2009].

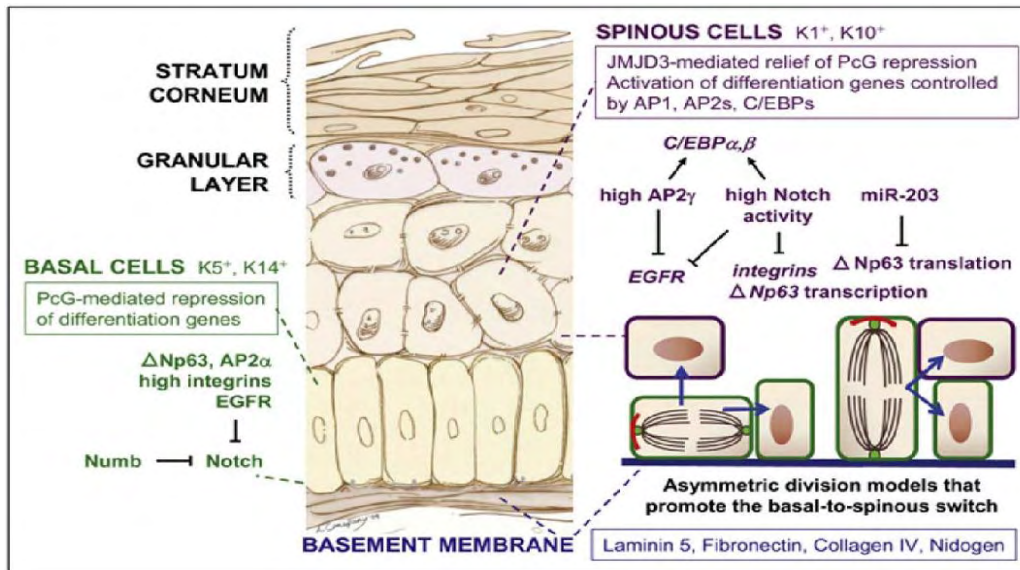


**Εικόνα 3.10.** Η ετερογένεια της βασικής στιβάδας της επιδερμίδας. Η β1 –ιντεγκρίνη και η ακετυλιωμένη ιστόνη H4 (AcH4) εμφανίζουν αντίστροφη έκφραση στην επιδερμίδα. Στα κύτταρα με μεγάλη έκφραση της β1 –ιντεγκρίνης τα επίπεδα της ακετυλιωμένης ιστόνης H4 είναι χαμηλά [Frye et al. 2007].

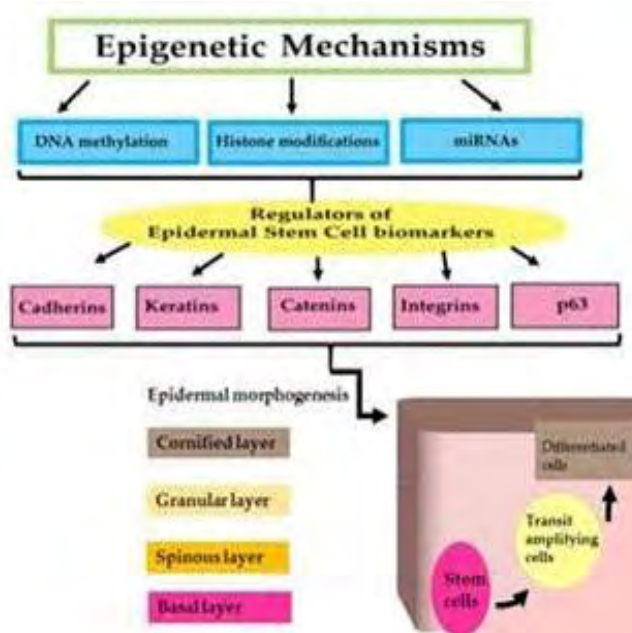
Στην επιδερμίδα λοιπόν, το ογκογονίδιο Myc είναι απαραίτητο για την έξοδο των βλαστοκυττάρων από την φωλεά τους και τη επακόλουθη αναπαραγωγή και διαφοροποίησή τους. Αυτή η διαδικασία φαίνεται πως ρυθμίζεται από το Myc μέσω επαγωγής τροποποιήσεων στις ιστόνες που τυπικά σχετίζονται με ενεργή κατάσταση της χρωματίνης. Σε μια άλλη μελέτη ωστόσο, η απομάκρυνση ενός άλλου μορίου που καταστέλλει την χρωματίνη, της τριμεθυλιωμένης λυσίνης 27 της ιστόνης H3 (H3K27me3), συσχετίστηκε με την μετάβαση από αναπαραγωγή των βασικών κυττάρων σε διαφοροποίησή τους [Blanpain and Fuchs 2009].

Πιο συγκεκριμένα, μια μελέτη έδειξε σε καλλιέργειες ανθρώπινων κερατινοκυττάρων ότι υπό συνθήκες ανάπτυξης, το 10% των υποκινητών των γονιδίων που εξετάστηκαν ήταν θετικοί για τον επιγενετικό δείκτη H3K27me3. Αντιθέτως υπό συνθήκες ευνοϊκές για διαφοροποίηση, οι υποκινητές 10% περίπου των γονιδίων που εμφάνισαν αύξηση στην έκφρασή τους στα κερατινοκύτταρα εμφάνισαν μείωση του H3K27me3 [Sen et al. 2008].

Μια πιθανή λειτουργική ερμηνεία αυτών των αντίθετων αποτελεσμάτων στην τροποποίηση της ιστόνης, κατάφερε να δοθεί με την εκλεκτική σίγαση μέσω siRNA της JMJD3, μιας απομεθυλάσης που πιστεύεται πως ευθύνεται για την απομάκρυνση των μεθυλομάδων από την λυσίνη 27 της ιστόνης H3. Η ελάττωση στην απομεθυλάση συσχετίστηκε με καταστολή της διαφοροποίησης της επιδερμίδας, ενώ η υπερέκφραση της JMJD3 φάνηκε πως προκαλεί την πρόιμη ενεργοποίηση του προγράμματος τελικής διαφοροποίησης. Μελλοντικές έρευνες αναμένεται να διαλευκάνουν ακόμα περισσότερο τους επιγενετικούς διακόπτες και τα σχετιζόμενα με αυτούς γονίδια – στόχους που ελέγχουν τη μετάβαση από αναπαραγωγή σε διαφοροποίηση και αντίστροφα στην ανθρώπινη επιδερμίδα (**Εικ. 3.11 και Εικ. 3.12**) [Blanpain and Fuchs 2009, Sen et al. 2008].



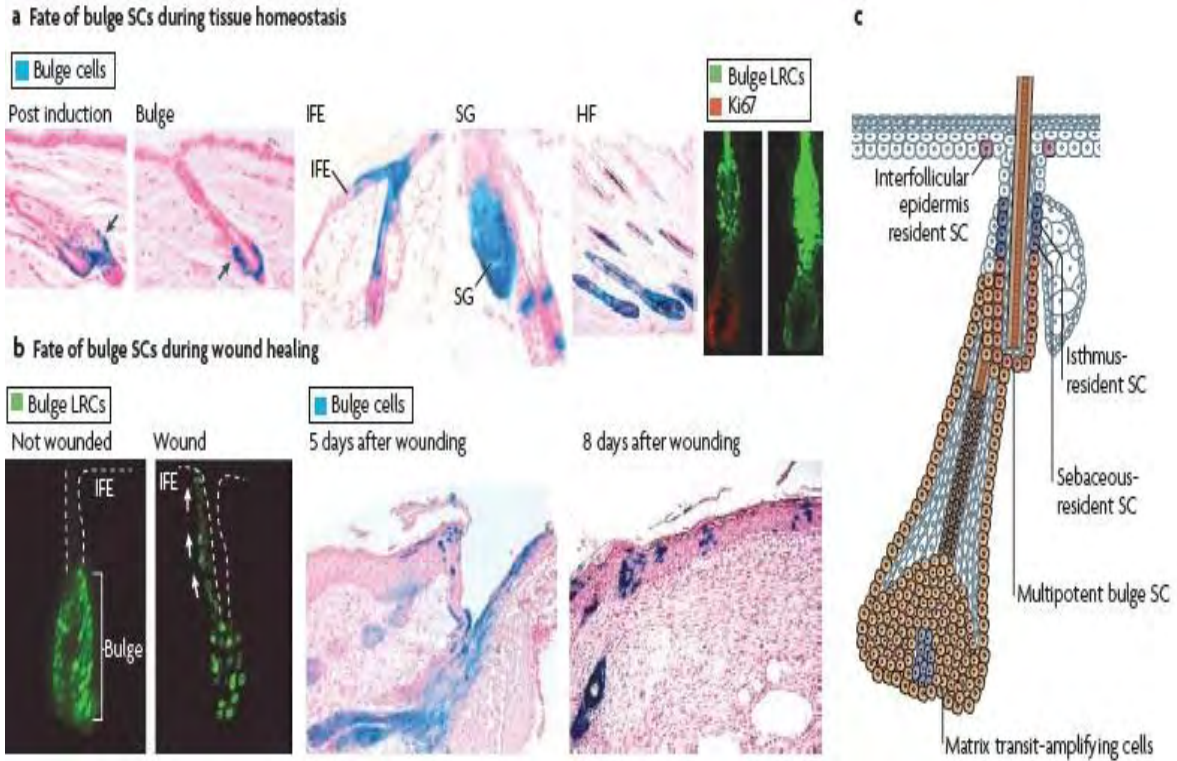
**Εικόνα 3.11. Η αρχιτεκτονική της μετάβασης από την βασική στην ακανθωτή στιβάδα.** Τα διαιρούμενα κύτταρα της βασικής στιβάδας της επιδερμίδας τα οποία αφορούν δυνητικά βλαστοκύτταρα, βρίσκονται προσκολλημένα στη βασική μεμβράνη και διαφοροποιούνται προς κύτταρα της ακανθωτής στιβάδας υπό την επίδραση διαφόρων ερεθισμάτων. Σημείο – κλειδί σε αυτή τη μετάβαση αποτελούν οι επιγενετικές τροποποιήσεις της χρωματίνης καθώς και η σηματοδότηση από το Notch, που ενεργοποιούνται στα ακανθωτά κύτταρα, ενώ όπως είδαμε είναι κατεσταλμένη στα βασικά κύτταρα μέσω ποικιλίας μηχανισμών στους οποίους συγκαταλέγεται και ο αναστολέας του Notch, Numb, ο οποίος συχνά κατανέμεται ασύμμετρα κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης. Με τη σειρά της, η Notch σηματοδότηση ελαττώνει την έκφραση της ιντεγκρίνης και του p63 γονιδίου και σε συνεργασία με την AP2 $\gamma$ , απενεργοποιεί την έκφραση του C/EBP [Fuchs 2009].



**Εικόνα 3.12.** Συνοπτική απεικόνιση των δράσεων των επιγενετικών μηχανισμών στα βλαστοκύτταρα της επιδερμίδας. Όσον αφορά: α) στη μεθυλίωση του DNA, η DNA μεθυλοτρανφεράση συμβάλει κυρίως στη ρύθμιση καντερίνων-καντενίνων (cadherins-catenins) και στη δέσμευση για διαφοροποίηση των βλαστοκυττάρων, β) στην τροποποίηση των ιστονών, η αποακετυλάση των ιστονών συμβάλει κυρίως στην κυτταρική διαίρεση και στην ακρίβεια του διαχωρισμού των χρωμοσωμάτων και στην καταστολή του p63 και γ) στα miRNA συμμετέχουν κυρίως στη διαφοροποίηση και καταστολή της αυτό-ανανέωσης των βλαστοκυττάρων και στην καταστολή του p63 [Saldanha et al. 2016].

### 3.2 ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ BULGE ΤΩΝ ΤΡΙΧΟΘΥΛΑΚΙΩΝ

Το τριχωτό δέρμα των θηλαστικών μπορεί να χωριστεί σε επιμέρους τριχοσηγηματογόνες μονάδες και την επιδερμίδα μεταξύ των τριχοθυλακίων IFE που τις περιβάλλει. Τα δύο τρίτα της τριχοσηγηματογόνου μονάδας υφίσταται κυκλικές εναλλαγές εκφύλισης (καταγενής φάση), ανάπαυσης (τελογενής φάση) και ανάπτυξης (αναγενής φάση) που στο σύνολό τους ονομάζονται κύκλος της τρίχας. Τα bulge βλαστοκύτταρα βρίσκονται στη βάση ή κοντά στη βάση του μη ανακυκλωμένου τμήματος του τριχοθυλακίου. Είναι υπεύθυνα για την δημιουργία και συντήρηση του ανανεούμενου τμήματος του τριχοθυλακίου κατά την αναγενή φάση του κύκλου της τρίχας. Στη φάση αυτή δηλαδή, τα βλαστοκύτταρα του τριχοθυλακίου τροφοδοτούν τα TACs κύτταρα του matrix τα οποία διαιρούνται ταχέως στον βολβό της τρίχας και μετά μετατρέπονται σε τελικώς διαφοροποιημένα προκειμένου να σχηματιστεί τόσο το στέλεχος της τρίχας όσο και το εσωτερικό έλυτρό της (**Εικ.3.13**) [Blanpain and Fuchs 2009].



**Εικόνα 3.13. Διαφορετικές φωλεές βλαστοκυττάρων διασφαλίζουν την ομοιόσταση της επιδερμίδας. a)** Στη διάρκεια της τελογενούς φάσης, τα βλαστοκύτταρα της bulge περιοχής επισημαίνονται ειδικά με β-γαλακτοσιδάση (LacZ, μπλε). Όταν τα τριχοθυλάκια υφίστανται ανανέωση, όλα τα κύτταρα των νεοσχηματισμένων τριχοθυλακίων είναι σημασμένα, αποδεικνύοντας με αυτό τον τρόπο ότι τα bulge βλαστοκύτταρα είναι υπεύθυνα για την φυσιολογική ομοιόσταση του τριχοθυλακίου. Επίσης αυτά τα κύτταρα είναι δυνατόν να συμβάλλουν στο σχηματισμό της IFE (επιδερμίδα μεταξύ των τριχοθυλακίων) και του σημηματογόνου αδένου, αν και αυτό παρατηρείται σπάνια και τις περισσότερες περιπτώσεις τα κύτταρα της IFE έχουν άλλη προέλευση. Αυτό δείχνει ότι η IFE μπορεί να συντηρηθεί ανεξάρτητα από τα bulge βλαστοκύτταρα κατά την ομοιόσταση. Τα bulge βλαστοκύτταρα, τα οποία απεικονίζονται με πράσινο χρώμα, φεύγουν από την φωλεά τους και ενεργά πολλαπλασιάζονται δημιουργώντας κύτταρα τα οποία είναι απαραίτητα για την ανανέωση του τριχοθυλακίου. **b)** Μετά από τραυματισμό, τα bulge βλαστοκύτταρα ενεργοποιούνται και μεταναστεύουν προς τα πάνω για να επιδιορθώσουν την IFE. **c)** Σχηματική απεικόνιση της επιδερμίδας με τα διαφορετικούς αυτόχθονους πληθυσμούς βλαστοκυττάρων και προγονικών TACs. Τα bulge βλαστοκύτταρα είναι πολυδύναμα, τοποθετημένα στο μόνιμο τμήμα του τριχοθύλακα. Τα βλαστοκύτταρα μεταξύ των τριχοθυλακίων της επιδερμίδας βρίσκονται στη βασική στιβάδα της επιδερμίδας. Τα αυτόχθονα προγονικά κύτταρα του ισθμού της τρίχας και του σημηματογόνου αδένου βρίσκονται στο εξωτερικό έλυτρο της τρίχας που είναι πάνω από την περιοχή bulge και κάτω από τον σημηματογόνο αδένου. Δεν είναι ακόμα γνωστό εάν οι δύο αυτοί τύποι προγονικών κυττάρων είναι ισοδύναμοι [Blanpain and Fuchs 2009].

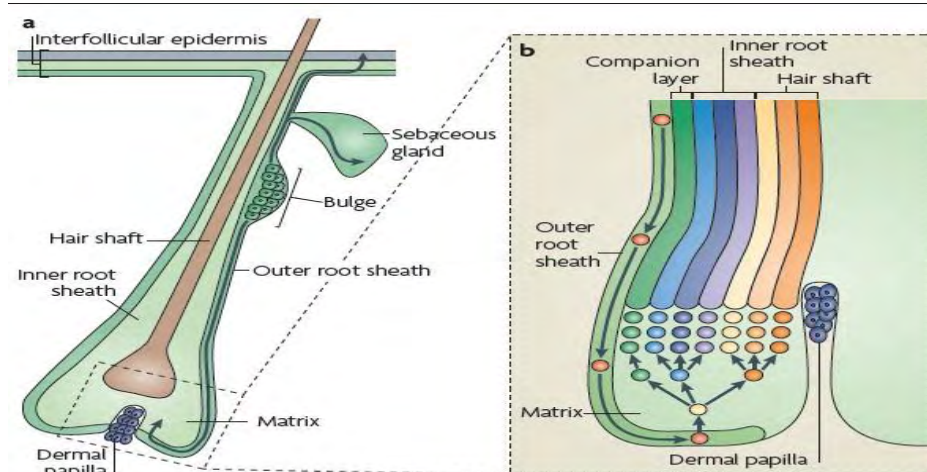


Τα βλαστοκύτταρα του τριχοθυλακίου εντοπίζονται σε ένα εξειδικευμένο μικροπεριβάλλον το οποίο καλείται bulge [Braun et al. 2003]. Αυτά τα κύτταρα ανανεώνονται με βραδύ ρυθμό, όπως αποδείχθηκε από πειράματα με τη χρήση χρωστικής την οποία συγκρατούν για εβδομάδες [Tumbar et al. 2004]. Αν και σχετικά αδρανή, τα περισσότερα κύτταρα της περιοχής bulge διαιρούνται πολλαπλές φορές κατά την διάρκεια κάθε κύκλου της τρίχας.

Η συμμετοχή της περιοχής bulge στην διατήρηση της ομοιόστασης του τριχοθυλακίου έχει τεκμηριωθεί με μια σειρά από πειράματα ανίχνευσης κυτταρικών σειρών με χρωστικές, που έγινε σε επίμυες (Εικ. 3.14). Χρησιμοποιήθηκαν λοιπόν επίμυες στους οποίους είχε σημειωθεί με χρωστική η ιστόνη H2B προκειμένου να αποδειχθεί ότι τα προγονικά κύτταρα του matrix του τριχοθυλακίου προέρχονται από τα κύτταρα της περιοχής bulge, τα οποία και πολλαπλασιάζονται καθώς εξέρχονται από την φωλεά τους. Σε άλλη πειραματική μελέτη χρησιμοποιήθηκαν διαγονιδιακοί επίμυες, που εκφράζουν μετά από επαγωγή το ένζυμο Cre recombinase, ώστε να γίνει η σήμανση της περιοχής του τριχοθυλακίου που περιλαμβάνει συγχρόνως την περιοχή bulge και την δευτερεύουσα hair germ περιοχή. Η τελευταία σχηματίζεται από μια μικρή συστοιχία κυττάρων στη βάση της περιοχής bulge, η οποία γειτνιάζει άμεσα με την δερματική θηλή στο στατικό τμήμα του τριχοθυλακίου. Αυτές οι μελέτες λοιπόν, έδειξαν ότι η περιοχή bulge και πιθανόν η hair germ περιοχή έχουν πολυδύναμα βλαστοκύτταρα του τριχοθυλακίου, που έχουν την δυνατότητα να διαφοροποιηθούν προς όλες τις κυτταρικές σειρές που απαρτίζουν την τριχοσημηματογόνο μονάδα. Πρόσφατα παρόμοιες μελέτες, ιχνηλάτησαν τα προγονικά κύτταρα για αρκετούς μήνες και τεκμηρίωσαν την ικανότητα των κυττάρων της περιοχής bulge να συμβάλλουν μακροπρόθεσμα στην ομοιόσταση του τριχοθυλακίου [Blanpain and Fuchs 2009].

Αντίθετα, υπό φυσιολογικές συνθήκες ομοιόστασης, αυτά τα κύτταρα φαίνεται να συμβάλλουν ελάχιστα μόνο, αν όχι καθόλου, στη ομοιόσταση της επιδερμίδας μεταξύ των τριχοθυλακίων IFE. Αυτό υπογραμμίζει την ύπαρξη μιας διαφορετικής δεξαμενής βλαστοκυττάρων στην IFE. Η σπουδαιότητα των κυττάρων της bulge περιοχής στην ανάπτυξη του δέρματος και στην ομοιόσταση έχει αποδειχθεί και με πειράματα εκλεκτικής απάλειψης του γονιδίου που κωδικοποιεί τον μεταγραφικό παράγοντα SOX9 από το δέρμα [Nowak et al. 2008]. Όταν γίνεται λοιπόν εκλεκτική στόχευση του SOX9 στο αναπτυσσόμενο έμβρυο, χάνεται η έκφραση του επιφανειακού δείκτη CD34 των ώριμων κυττάρων της περιοχής bulge και το τριχοθυλάκιο αποτυγχάνει να ανανεωθεί, υποδεικνύοντας μια ελαττωματική λειτουργία των βλαστοκυττάρων. Όταν γίνεται απάλειψη δηλαδή του γονιδίου SOX9 στο έμβρυο, τα κύτταρα της περιοχής bulge αποτυγχάνουν να σχηματιστούν κατά την ανάπτυξη, η μορφογένεση του τριχοθυλακίου διακόπτεται και ο σχηματισμός του σημηματογόνου αδένου σταματά εντελώς. Όλα αυτά τα δεδομένα αποτελούν αποδείξεις ότι η περιοχή bulge φιλοξενεί βλαστοκύτταρα τα οποία είναι απαραίτητα όχι μόνο για την ομοιόσταση του τριχοθυλακίου αλλά και για τη μορφογένεση και ανάπτυξή του.

Ένα από τα βασικά ερωτήματα που εγείρονται είναι το εξής: Ποιο είναι το σημείο της μη επιστροφής, στο οποίο ένα βλαστοκύτταρο του δέρματος δεσμεύεται μη αντιστρεπτά για συγκεκριμένη διαφοροποίηση; Υπάρχουν ενδείξεις ότι τα πρώιμα προγονικά κύτταρα που έχουν φύγει από τη φωλεά τους μπορεί να αποκτήσουν ξανά ιδιότητες βλαστοκυττάρων, τουλάχιστον σε καταστάσεις stress. Αντίθετα τα ταχέως διαιρούμενα TACs του matrix φαίνεται να είναι πιο δεσμευμένα προς τελική διαφοροποίηση. Όπως τεκμηριώνεται από πειράματα ιχνηλάτησης κυττάρων, το δυναμικό για διαφοροποίηση των κυττάρων του matrix οριοθετείται σε επτά ομόκεντρες ζώνες του ώριμου τριχοθυλακίου με τα αντίστοιχα μονοδύναμα προγονικά κύτταρα [Legué and Nicolas 2005].



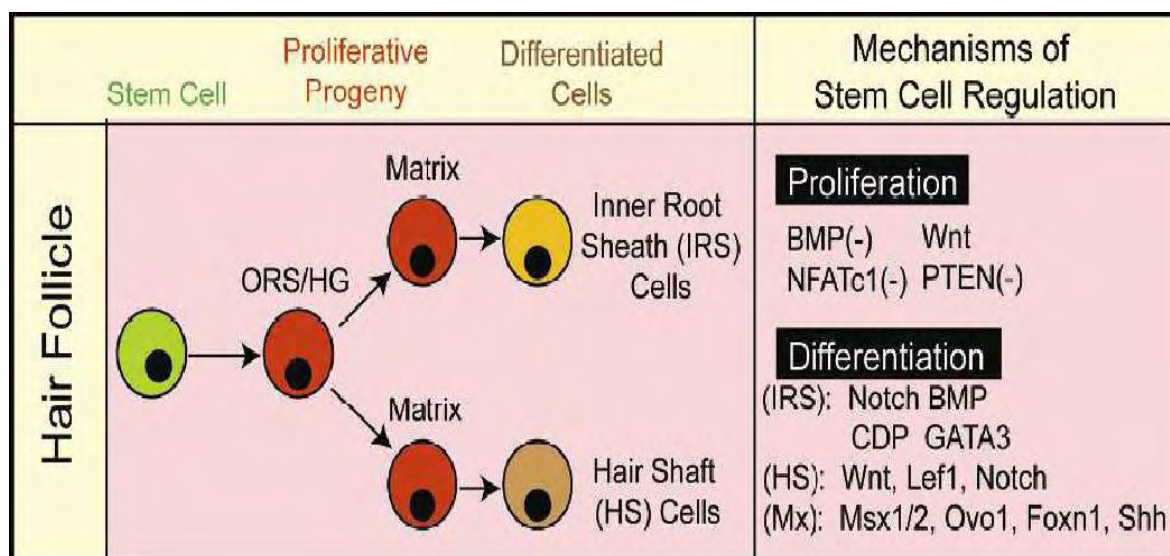
**Εικόνα 3.14. Κατά τη διάρκεια της ομοιόστασης, τα βλαστοκύτταρα της περιοχής bulge περιοδικά ενεργοποιούνται προκειμένου να σχηματιστεί ένα νέο τριχοθυλάκιο.**

Κατά την αναπτυξιακή φάση του κύκλου της τρίχας -αναγενής φάση- τα προγονικά κύτταρα της bulge περιοχής αποικίζουν το κατώτερο εξωτερικό έλυτρο της τρίχας προς το matrix, έναν εξειδικευμένο πληθυσμό TAC κυττάρων με μεγάλο αναπτυξιακό δυναμικό που είναι υπεύθυνα για τον σχηματισμό της νέας τρίχας. Σε συνθήκες τραυματισμού, όπου η επιδερμίδα μεταξύ των τριχοθυλακίων IFE ή τα βλαστοκύτταρα του σμηγματογόνου αδένου υφίστανται βλάβη, τα βλαστοκύτταρα της bulge περιοχής του τριχοθυλακίου κινητοποιούνται, μεταναστεύουν και διαφοροποιούνται προς αυτές τις κυτταρικές σειρές. Τα προγονικά bulge κύτταρα μετακινούνται κατά μήκος του εξωτερικού ελύτρου προς τη βάση της τρίχας. Στη συνέχεια μεταπίπτουν σε matrix κύτταρα, τα οποία μετά τον πολλαπλασιασμό διαφοροποιούνται σε μία από τις 7 κυτταρικές σειρές της τρίχας όπως φαίνεται και στην εικόνα. Η στενή επαφή με τη δερματική θηλή είναι αναγκαία προκειμένου να διατηρηθεί το υψηλό δυναμικό για πολλαπλασιασμό του matrix και κατευθύνει επίσης την διαφοροποίηση. Πειράματα με ανίχνευση της πορείας των κυττάρων, έδειξαν, ότι στο μέσο της μορφογένεσης του τριχοθυλακίου, αφού έχει σχηματισθεί η αρχική περιοχή bulge, τα προγονικά του κύτταρα σταδιακά αντικαθιστούν το αρχικά σχηματισμένο κατώτερο εξωτερικό έλυτρο της τρίχας όπως και το matrix. Μετά την ολοκλήρωση της μορφογένεσης, ολόκληρη η τριχοσμηγματογόνος μονάδα αποτελείται από κύτταρα σημασμένα για τον μεταγραφικό παράγοντα SOX9. Αυτά τα ευρήματα υποστηρίζουν την θεωρία που έχει διατυπωθεί τελευταία, σύμφωνα με την οποία τα κύτταρα που απαρτίζουν την περιοχή bulge περιοδικά απομακρύνονται από την φωλεά τους κατά την αναγεννή φάση. Στη συνέχεια μεταναστεύουν κατά μήκος του τριχοθυλακίου, παράγοντας τα TAC κύτταρα του matrix, τα οποία διαφοροποιούνται προς κύτταρα που σχηματίζουν το στέλεχος της τρίχας και το εσωτερικό έλυτρό της. Σε αναπτυσσόμενους επίμυες με έλλειψη του SOX9, το matrix που φυσιολογικά επεκτείνεται κατά την μορφογένεση, μειώνεται σε μέγεθος μέχρι που δεν παραμένουν καθόλου κύτταρα του matrix με αναπτυξιακό δυναμικό στη βάση του θύλακα της τρίχας [Blanpain and Fuchs 2009].

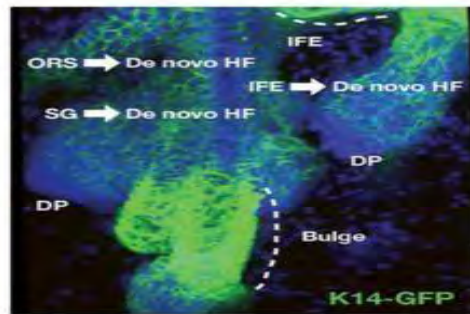
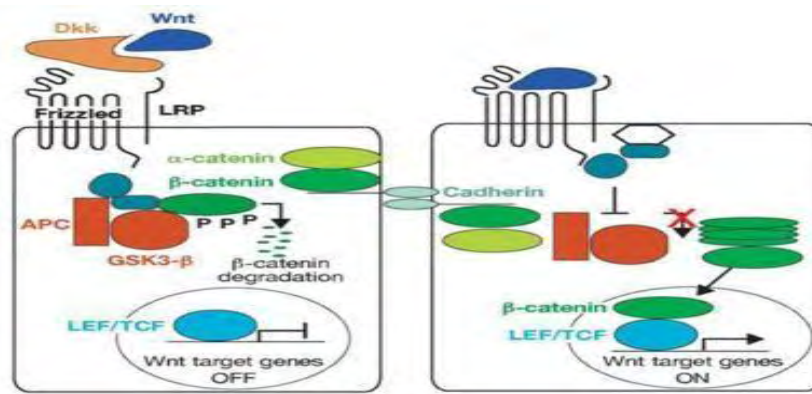
Μετά από βλάβη, τα βλαστοκύτταρα της περιοχής εισέρχονται ταχέως σε προγράμματα διαφοροποίησης, κάτι που δεν παρατηρείται υπό φυσιολογικές συνθήκες ομοιόστασης. Τα γενετικώς σημασμένα βλαστοκύτταρα της bulge περιοχής μπορούν να κινητοποιηθούν και να επιδιορθώσουν την τραυματισμένη επιδερμίδα *in vivo*. Επιπλέον, η ροή των bulge κυττάρων προς τα ανώτερα στρώματα της επιδερμίδας φαίνεται να ρυθμίζεται αυστηρά, καθώς σταματά όταν το τραύμα επούλωθεί. Σχετικά πειράματα έδειξαν ότι η διαμεσολαβούμενη από την περιοχή bulge επιδιόρθωση της επιφάνειας του δέρματος είναι παροδική. Παρουσιάζει ενδιαφέρον ότι τα βλαστοκύτταρα στο αναπτυσσόμενο τριχοθυλάκιο του νεογέννητου έχουν περισσότερο μακροπρόθεσμη επιδιορθωτική δράση [Blanpain et al. 2004].

Ένας άλλος πληθυσμός δυνητικών βλαστοκυττάρων έχει αναγνωρισθεί σε μια περιοχή ανάμεσα στην περιοχή bulge και τον σημηματογόνο αδένα του τριχοθυλακίου, γνωστή ως ο άνω ισθμός. Τα κύτταρα σε αυτή τη περιοχή του τριχοθυλακίου χαρακτηρίζονται από την έκφραση του κυτταροπλασματικού δείκτη mTS24 [Nijhof et al 2006]. *In vitro*, τα mTS24+ κύτταρα βρέθηκαν να έχουν μεγαλύτερο δυναμικό σχηματισμού κλώνων από τα mTS24- κύτταρα. Επιπλέον η μεταμόσχευση αυτών των κυττάρων αναδημιούργησε όλες τις κυτταρικές σειρές της επιδερμίδας, δεδομένο που υποστηρίζει την πολυδυναμία τους, χρειάζονται όμως περαιτέρω πειράματα για να διευκρινιστεί η φύση αυτών των κυττάρων (**Εικ. 3.13c**) [Jensen et al. 2008].

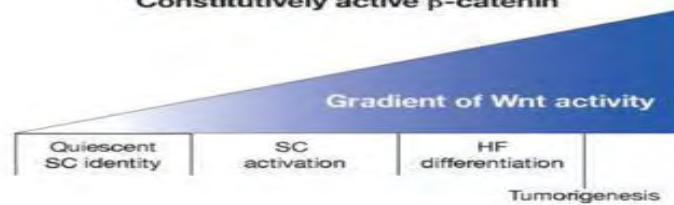
Οι μοριακοί μηχανισμοί που ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των hESCs φαίνονται στην **εικόνα 3.15**, ενώ το κυριότερο σηματοδοτικό μονοπάτι των Wnt και β-κατενίνης κατά τη διάρκεια αναγέννησης του τριχοθυλακίου αναπαριστάται στην **εικόνα 3.16**.



**Εικόνα 3.15.** Οι μοριακοί μηχανισμοί που ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των hESCs [Fuchs and Horsley 2008α].



Constitutively active  $\beta$ -catenin



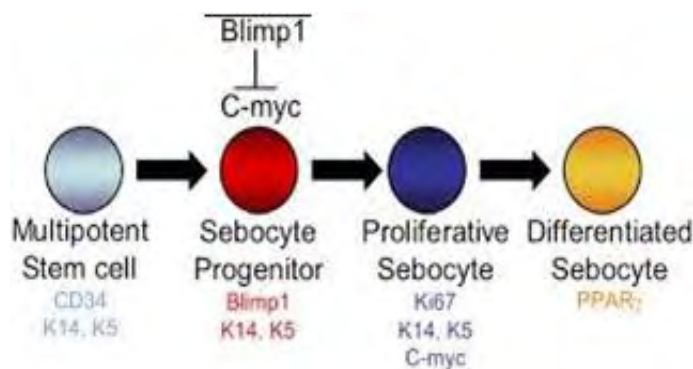
**Εικόνα 3.16. Το σηματοδοτικό μονοπάτι των Wnt και  $\beta$ -κατενίνης κατά τη διάρκεια αναγέννησης του τριχοθυλακίου.** Πάνω: Επί απουσίας ενός Wnt σήματος, η περίσσεια της κυτταροπλασματικής  $\beta$ -κατενίνης αποδομείται. Μετά από σύνδεση με το Wnt, ο ενεργοποιημένος υποδοχέας του επιστρατεύει συγκεκριμένα μόρια του συμπλέγματος που αποδομεί τη  $\beta$ -κατενίνη, με αποτέλεσμα αυτή να μην αποδομείται και να μεταβαίνει στον πυρήνα, όπου αλληλεπιδρά με μεταγραφικούς παράγοντες της LEF/TCF οικογένειας. Κατά τη διάρκεια του κύκλου της τρίχας στον ενήλικα, το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt/ $\beta$ -κατενίνης είναι απαραίτητο για τη διατήρηση των ιδιοτήτων των βλαστοκυττάρων του τριχοθυλακίου. **Μεσαία:** Όταν η ενεργή μορφή της  $\beta$ -κατενίνης διατηρείται για μεγάλο χρονικό διάστημα, τα ποντίκια αναπτύσσουν de novo τριχοθυλάκια από την IFE, το εξωτερικό έλυτρο της τρίχας (ORS) και τους σημηματογόνους αδένες (SGS). **Κάτω:** Η διαβάθμιση της δραστηριότητας των Wnt/ $\beta$ -κατενίνης καθορίζει την τύχη και τη συμπεριφορά των βλαστοκυττάρων του τριχοθυλακίου [Blanpain and Fuchs 2006a].



### 3.3 ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΤΩΝ ΣΜΗΓΜΑΤΟΓΟΝΩΝ ΑΔΕΝΩΝ

Πειράματα με μεταμοσχεύσεις γενετικά σημασμένων κυττάρων έχουν εδώ και καιρό τεκμηριώσει την παρουσία μονοδύναμων προγονικών κυττάρων για τον σμηγματογόνο αδέν. Πρόσφατες μελέτες ταυτοποίησαν λίγα αυτόχθονα κύτταρα στον σμηγματογόνο αδέν σημασμένα για την έκφραση του BLIMP1 (γνωστό και ως PRDM1) τα οποία και εντοπίζονται στο σημείο σύνδεσης του αδέν με το τριχοθυλάκιο. Η περαιτέρω ιχνηλάτησή τους απέδειξε ότι πιθανότατα αυτά είναι προγονικά κύτταρα των σμηγματογόνων κυττάρων που μπορούν να δημιουργήσουν ολόκληρο τον αδέν. Αυτά τα ευρήματα προτείνουν ότι, όπως και στην επιδερμίδα IFE, η ομοιοστάση του σμηγματογόνου αδέν πραγματοποιείται από τα δικά του αυτόχθονα προγονικά κύτταρα.

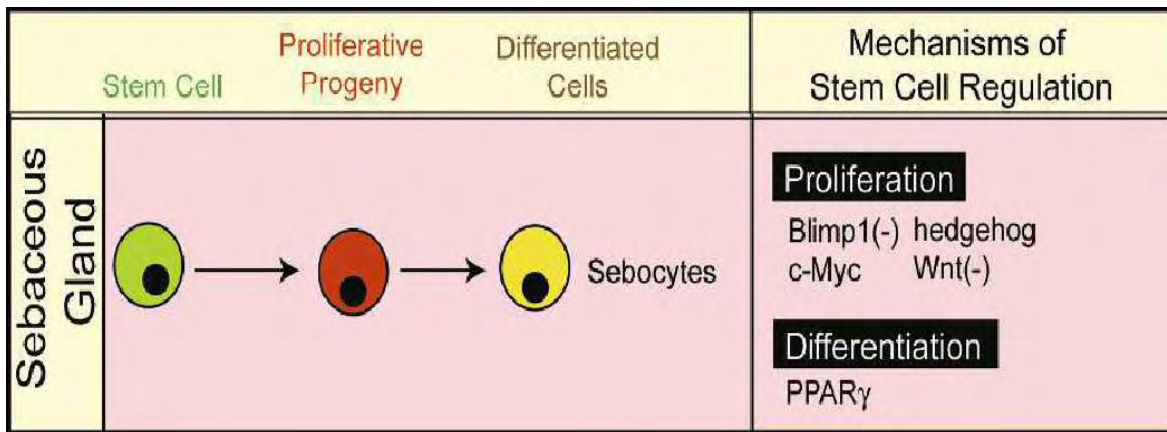
Το μόριο του BLIMP1 είναι ένας μεταγραφικός καταστολέας του Myc, το οποίο εμπλέκεται στη μετατροπή των βλαστοκυττάρων της επιδερμίδας σε δεσμευμένα προς συγκεκριμένη διαφοροποίηση TACs, τα οποία στη συνέχεια εισέρχονται σε τελική διαφοροποίηση. Έχει ενδιαφέρον ότι η απάλειψη του BLIMP1 προκαλεί υπερπλασία των σμηγματογόνων αδένων. Αυτό το χαρακτηριστικό, εν μέρει οφείλεται στην ενεργοποίηση του myc που διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των αδενικών κυττάρων. Ωστόσο, φαίνεται ότι τα bulge βλαστοκύτταρα παρέχουν κύτταρα απαραίτητα για την ομοιοστάση, όταν η ανανέωση των κυττάρων στον αδέν πραγματοποιείται σε ασυνήθιστους ρυθμούς. Φαίνεται, επομένως, ότι τα αυτόχθονα προγονικά κύτταρα του σμηγματογόνου αδέν διασφαλίζουν την ομοιοστάση, αλλά όταν αυτά έχουν χαθεί ή υποστεί βλάβη, τα bulge βλαστοκύτταρα είναι επίσης ικανά να δημιουργήσουν κύτταρα του σμηγματογόνου αδέν (Εικ. 3.17) [Horsley et al. 2006].



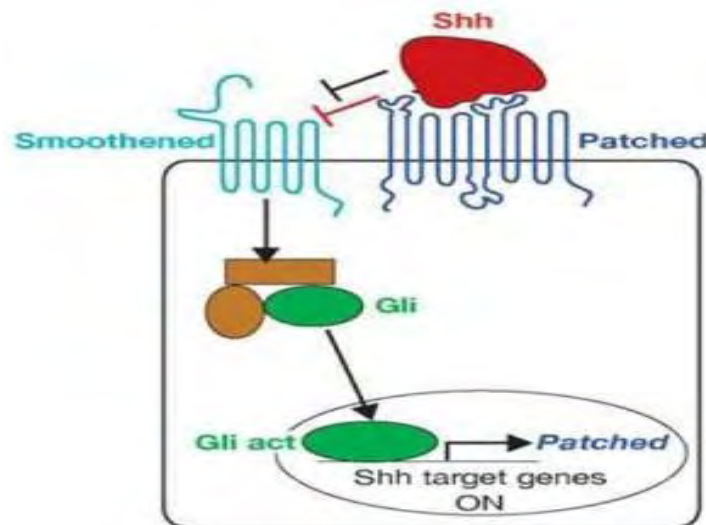
**Εικόνα 3.17.** Ο ρόλος του BLIMP1 στην εξέλιξη των σμηγματογόνων αδένων. Ο BLIMP1 εκφράζεται από έναν πληθυσμό κυττάρων που δρα σαν μονοδύναμο πρόγονο κύτταρο των διαφοροποιημένων κυττάρων των σμηγματογόνων αδένων. Ο BLIMP1 καταστέλλει την έκφραση του c-myc σε αυτά τα πρόγονο κύτταρα και ρυθμίζει το μέγεθος και τον αριθμό των κυττάρων αυτών μέσα στον αδέν [Horsley et al. 2006].



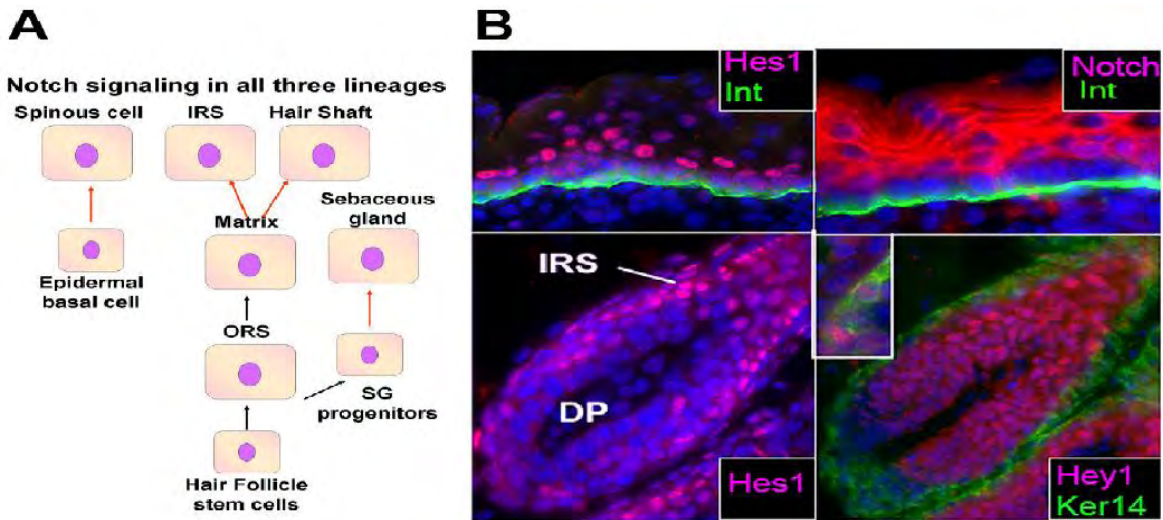
Οι μοριακοί μηχανισμοί που ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των βλαστοκυττάρων των σημηματογόνων αδένων φαίνονται στην **εικόνα 3.18**, ενώ το κυριότερο σηματοδοτικό μονοπάτι που συμμετέχει στη ρύθμισή τους είναι το Sonic Hedgehog (**Shh**) και αναπαριστάται στην **εικόνα 3.19**. Τέλος, αξίζει να επισημανθεί ο σημαντικός ρόλος του Notch μονοπατιού και στις 3 βασικές διαφορετικές κυτταρικές σειρές των βλαστοκυττάρων του δέρματος (**Εικ. 3.20**) [Fuchs 2008].



**Εικόνα 3.18.** Οι μοριακοί μηχανισμοί που ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των βλαστοκυττάρων των σημηματογόνων αδένων [Fuchs and Horsley 2008α].



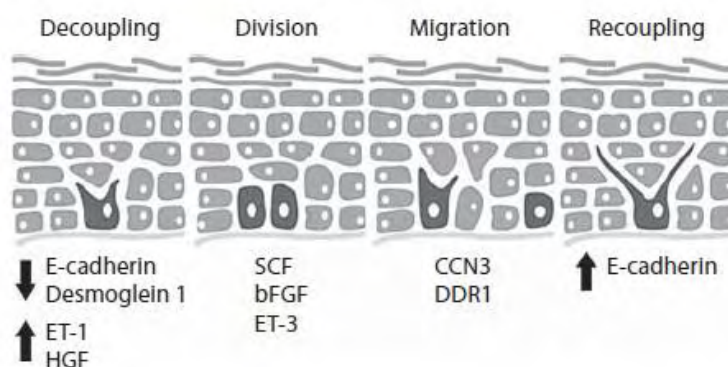
**Εικόνα 3.19.** Το **Sonic Hedgehog (Shh)** σηματοδοτικό μονοπάτι. Επί απουσίας του Shh, ο υποδοχέας του, Patched αναστέλλει τη δραστηριότητα του υποδοχέα Smoothened. Με την πρόσδεση του Shh, ο Patched δε μπορεί να καταστείλει τον Smoothened, ο οποίος ελευθερώνεται και προωθεί τη μετακίνηση του μορίου Gli, εντός του πυρήνα, γεγονός που του επιτρέπει να ενεργοποιεί τα γονίδια-στόχους του [Blainpain and Fuchs 2006α].



**Εικόνα 3.20. Οι ρόλοι της σηματοδότησης Notch και στις τρεις διαφορετικές κυτταρικές σειρές βλαστοκυττάρων του δέρματος. (A)** Στο δέρμα, οι Notch προσδέτες εντοπίζονται συχνά στη βασική στιβάδα, ενώ οι υποδοχείς τους τυπικά βρίσκονται υπερβασικά. Η σηματοδότηση Notch καταλήγει στην απελευθέρωση του ενδοκυττάριου τμήματος του Notch, το οποίο με τη σειρά του δρα ως μεταγραφικός παράγοντας για την DNA - συνδεόμενη πρωτεΐνη RBPj. Οι στόχοι αυτού του συμπλόκου συμπεριλαμβάνουν τα μόρια Hes1 και Hey1, τα οποία συνδέονται με το DNA και συχνά λειτουργούν ως καταστολείς της μεταγραφής. Στις κυτταρικές σειρές του δέρματος, η Notch σηματοδότηση, όπως επισημαίνεται είτε από την έκφραση του ενδοκυττάριου τμήματος του Notch ή των γονιδίων στόχων Hes1 και Hey1, είτε με λειτουργικές μελέτες, διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη μετάβαση των κυττάρων από κατάσταση πολλαπλασιασμού σε διαφοροποίηση. Τα βέλη αναπαριστούν τα μοριακά βήματα στη πορεία καθεμίας από τις τρεις βασικές κυτταρικές σειρές του δέρματος. Τα κόκκινα βέλη είναι τα βήματα στα οποία δρα η Notch σηματοδότηση. **(B)** Η μικροσκοπία ανοσοφθορισμού χρησιμοποιήθηκε σε τομές δέρματος ποντικού από την E18.5 ημέρα της κύησης (επιδερμίδα) και από την 28η ημέρα μετά τη γέννηση (βολβός τρίχας) προκειμένου να αναδείξει την εντόπιση των Notch, Hes1, και Hey1. Σε όλα τα δείγματα οι πυρήνες έχουν σημανθεί με μπλε χρώμα. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκαν αντισώματα για την ντεγκρίνη β4 (Int) για την απεικόνιση της χοριο-επιδερμικής συμβολής και για την κερατίνη 14 (Ker14), ώστε να απεικονιστεί η βασική στιβάδα του εξωτερικού ελύτρου της τρίχας. Οι δύο **πάνω εικόνες** απεικονίζουν τη σύγχρονη έκφραση του Notch και του Hes1, που είναι ιδιαίτερα ισχυρή στο σημείο μετάβασης από τη βασική στην ακανθωτή στιβάδα της επιδερμίδας. Οι δύο **κάτω εικόνες** δείχνουν ότι το Hes1 εκφράζεται πιο έντονα στα υπό διαφοροποίηση κύτταρα του εσωτερικού ελύτρου της τρίχας (αριστερά), ενώ το Hey1 εκφράζεται έντονα στο εσωτερικό έλυτρο της τρίχας και στα κύτταρα του επιθηλίου της τρίχας (προφλοιώδη). Παρατηρείται ότι τα υψηλού αναπαραγωγικού δυναμικού κύτταρα του matrix στη βάση του βολβού της τρίχας είναι αρνητικά για Notch σηματοδότηση [Fuchs 2008].

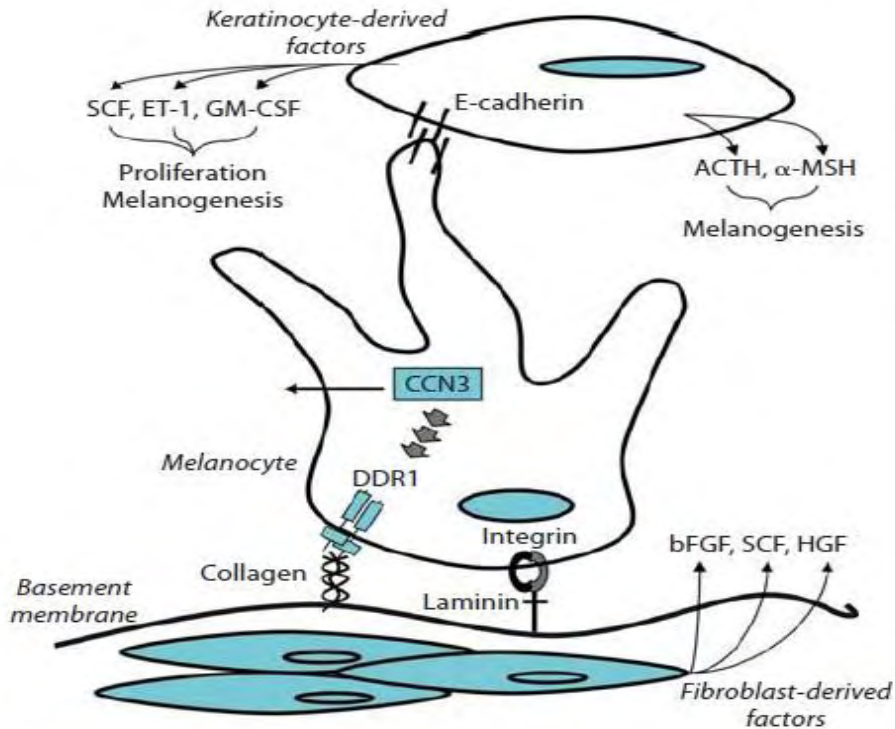
### 3.4 ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΥΠΕΥΘΥΝΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΜΟΙΟΣΤΑΣΗ ΤΩΝ ΜΕΛΑΝΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Στη βασική στιβάδα της επιδερμίδας η αναλογία μελανοκύτταρα προς κερατινοκύτταρα είναι 1 προς 5. Ο πολλαπλασιασμός των μελανοκυττάρων είναι κυρίως υπό τον έλεγχο των κερατινοκυττάρων. Είναι πλέον γνωστό ότι οι διαντιδράσεις με τα κερατινοκύτταρα είναι πολύ σημαντικές στην ομοίωση των μελανοκυττάρων. Τα στάδια για τον πολλαπλασιασμό των μελανοκυττάρων είναι τα εξής: (1) αποσύνδεση από τη βασική μεμβράνη και τα κερατινοκύτταρα, (2) πολλαπλασιασμός, (3) μετανάστευση και επανατοποθέτηση στη βασική μεμβράνη και (4) κυτταρική εξάπλωση με ανάπτυξη δενδριτών και επανασύνδεση με τα κερατινοκύτταρα (Εικ. 3.21).



**Εικόνα 3.21. Πολλαπλασιασμός του μελανοκυττάρου στο ανθρώπινο δέρμα.**  
Αποσύνδεση από τη βασική μεμβράνη: η έκκριση ET-1 (endothelin-1) από τα κερατινοκύτταρα και του HGF (hepatocyte growth factor) από τους ινοβλάστες έχει ως αποτέλεσμα την καταστολή της έκφρασης της E- καντχερίνης. Διαίρεση: ο πολλαπλασιασμός επάγεται από παράγοντες όπως ο SCF (stem cell factor) που εκκρίνονται από κερατινοκύτταρα και ινοβλάστες, bFGF (basic fibroblast growth factor) από τα κερατινοκύτταρα και ET-3 από ινοβλάστες. Μετανάστευση: Είναι απαραίτητη η έκφραση των πρωτεϊνών CCN3 και DDR1 για το σωστό προσανατολισμό στη βασική μεμβράνη. Επανασύνδεση σε βασική μεμβράνη: Αυξάνεται η έκφραση της E-καντχερίνης και επανασύνδεση με κερατινοκύτταρα [Santiago-Walker et al. 2009].

Τα κερατινοκύτταρα ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό των μελανοκυττάρων μέσω των διακυτταρικών συνδέσεων και την έκκριση αυξητικών παραγόντων και σηματοδοτικών μορίων (Εικ. 3.22).



**Εικόνα 3.22. Το μικροπεριβάλλον του μελανοκυττάρου.** Τα κερατινοκύτταρα εκκρίνουν παράγοντες που προωθούν τον πολλαπλασιασμό των μελανοκυττάρων και την παραγωγή μελανίνης, μεταξύ των οποίων τα μόρια SCF (stem cell factor), ET-1 (endothelin-1), GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, ACTH (adreno-corticotrophic hormone) και α-MSH (α-melanocyte stimulating hormone). Οι ινοβλάστες επίσης συμβάλλουν στη ρύθμιση των μελανοκυττάρων με την έκκριση του bFGF (fibroblast growth factor), SCF και HGF (hepatocyte growth factor). Τα μελανοκύτταρα διατηρούν τον προσανατολισμό τους στο χώρο, συνδεδεμένα με τις πρωτεΐνες λαμινίνης και κολλαγόνου της βασικής μεμβράνης, ενώ πιθανό ρόλο μπορεί να διαδραματίζουν τα μόρια CCN3 και DDR1 [Santiago-Walker et al. 2009].

Τα μελανοκύτταρα που καλλιεργούνται χωρίς την παρουσία των κερατινοκυττάρων εμφανίζουν φαινότυπο παρόμοιο με μελάνωμα. Η πρόσθεση σε δεύτερο χρόνο κερατινοκυττάρων στη καλλιέργεια έχει ως αποτέλεσμα την επαναφορά σε φαινότυπο μελανοκυττάρου. Τα κερατινοκύτταρα ανακτούν τον έλεγχο του πολλαπλασιασμού των μελανοκυττάρων ενώ η έκφραση των δεικτών που χαρακτηρίζουν το μελάνωμα χάνεται σε 3- 4 μέρες. Ενδιαφέρον παρουσιάζει μια μελέτη με διαγονιδιακά ποντίκια στα οποία έγινε απάλειψη του RXRa (retinoid X receptor a) από τα κερατινοκύτταρα. Τα πειραματόζωα εμφάνισαν μεγάλο αριθμό μελανοκυτταρικών σπύλων μερικοί από τους οποίους προχώρησαν σε όγκους παρόμοιους με το ανθρώπινο κακόηθες μελάνωμα [Indra et al. 2007].

### 3.5 ΜΕΣΕΓΧΥΜΑΤΙΚΑ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

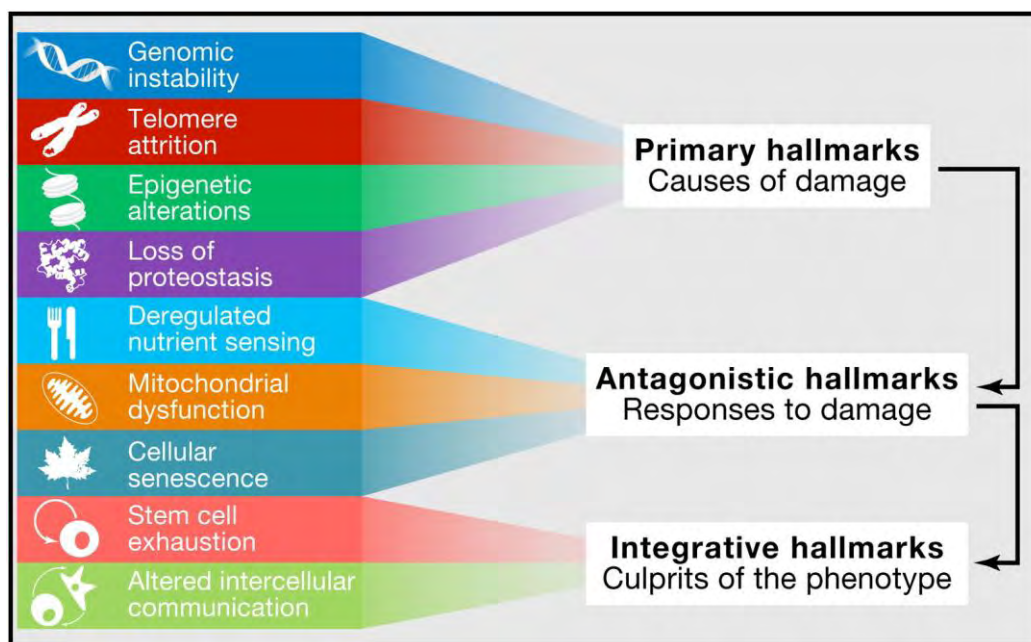
Ένας διαρκώς αυξανόμενος όγκος δεδομένων τεκμηριώνει την παρουσία των μεσεγχυματικών βλαστοκυττάρων εντός του χορίου του δέρματος. Το γεγονός που σηματοδότησε την εκκίνηση της έρευνας για την παρουσία των MSCs στο δέρμα ήταν μια δημοσίευση το 2001 από τους Toma et al., στην οποία αναφερόταν ότι είχαν κατορθώσει να απομονώσουν πολυδύναμα βλαστοκύτταρα από το χόριο ενήλικου ποντικίου, τα οποία χαρακτήρισαν ως “προερχόμενα από το δέρμα προγονικά κύτταρα” (skin derived precursors – SKPs). Αυτά τα κύτταρα ήταν όχι μόνον ικανά να δώσουν γένεση σε κυτταρικές σειρές του μεσοδέρματος (λιποκύτταρα και λεία μυϊκά κύτταρα) *in vitro*, αλλά επίσης να διαφοροποιηθούν προς νευρώνες, γεγονός που οδήγησε στον χαρακτηρισμό τους ως βλαστοκύτταρα. Συγκρίνοντας *in vitro* τα χαρακτηριστικά της διαφοροποίησης της επιδερμίδας, του χορίου, και του ισχιακού νεύρου, οι Toma et al. καθόρισαν ότι μόνον το χόριο διαθέτε αυτού του είδους τα μεσεγχυματικά κύτταρα. Επιπλέον έδειξαν ότι και το χόριο του τριχωτού της κεφαλής σε ενήλικο άνθρωπο διαθέτει την ίδια ιδιότητα. Η ομάδα συμπέρανε πως το κύτταρο αυτό του χορίου, που είναι ικανό να παράγει κύτταρα που ανήκουν εμβρυολογικώς σε περισσότερες από μία βλαστικές στιβάδες, μπορεί να αποτελέσει τη δίοδο ώστε το δέρμα να λειτουργήσει ως μία εύκολα προσβάσιμη, αυτόλογη πηγή για μελλοντική μεταμόσχευση βλαστοκυττάρων [Toma et al 2001].

Μετέπειτα μελέτες επιβεβαίωσαν τα αποτελέσματα αυτά και στους ανθρώπους. Απομονώθηκαν λοιπόν και στους ανθρώπους MSCs με δυναμικό διαφοροποίησης προς πολλαπλές κυτταρικές σειρές και συγκεκριμένα προς λιποκύτταρα, οστεοκύτταρα και χονδροκύτταρα [Sellheyer et al. 2009, Klimczak and Kozłowska 2016].



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΤΑ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ Η ΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

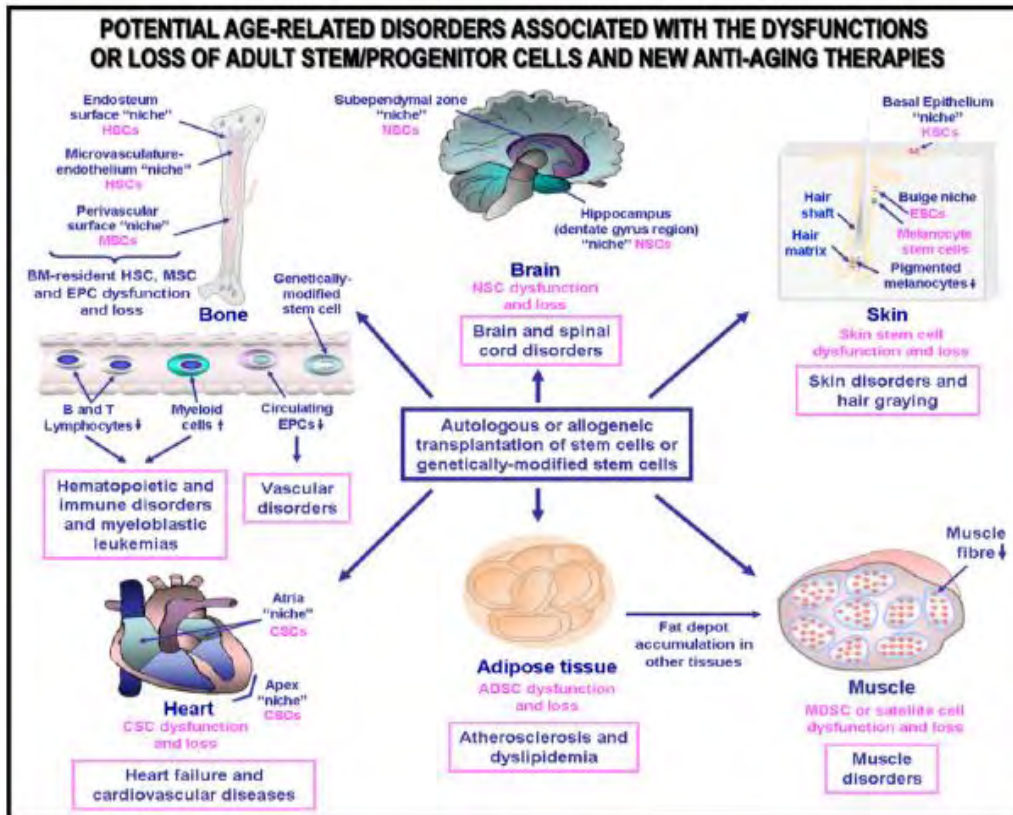
Τα βλαστοκύτταρα των ιστών των ενηλίκων, με την πάροδο του χρόνου εξαντλούνται και αυτά στον ανθρώπινο οργανισμό [Schultz and Sinclair 2016] και μάλιστα η διαδικασία αυτή αποτελεί και ένα από τα ορόσημα της γήρανσης (Εικ. 4.1) [López-Otín et al. 2013].



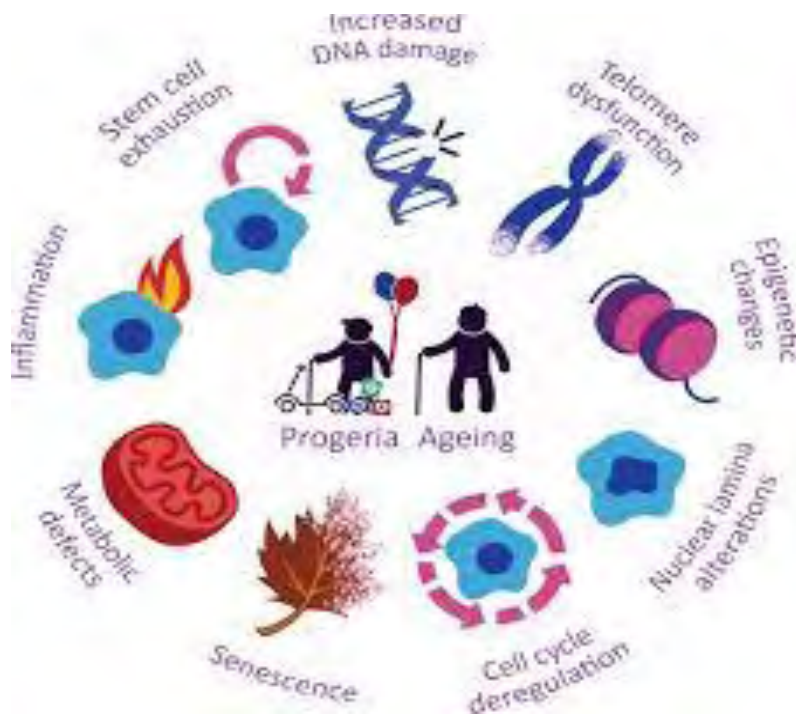
Εικόνα 4.1. Ορόσημα της γήρανσης [López-Otín et al. 2013].

Η εξάντληση των βλαστοκυττάρων συμβάλλει στη γήρανση όλων των ιστών του οργανισμού συμπεριλαμβανομένου και του δέρματος (Εικ. 4.2). Αυτό επιβεβαιώνεται κι από το γεγονός ότι η εξάντληση των βλαστοκυττάρων είναι ένα από τα ορόσημα και των συνδρόμων προγηρίας (Εικ. 4.3) [López-Otín et al. 2016]. Τα σύνδρομα αυτά αποτελούν μια ομάδα σπάνιων γενετικών διαταραχών που χαρακτηρίζεται από κλινικά χαρακτηριστικά που μιμούνται την φυσιολογική γήρανση, όπως απώλεια τριχών και μειωμένη σφριγηλότητα δέρματος, αλλοιώσεις νυχιών (χαρακτηριστικά γήρανσης του δέρματος και των εξαρτημάτων του), χαμηλό ανάστημα, οστεοπόρωση και καρδιολογικές νόσους [Gordon et al. 2014].





Εικόνα 4.2. Η εξάντληση των βλαστοκυττάρων με την πάροδο του χρόνου συμβάλλει στη δυσλειτουργία/ στη γήρανση όλων των ιστών του οργανισμού [Mimeault and Batra 2009].

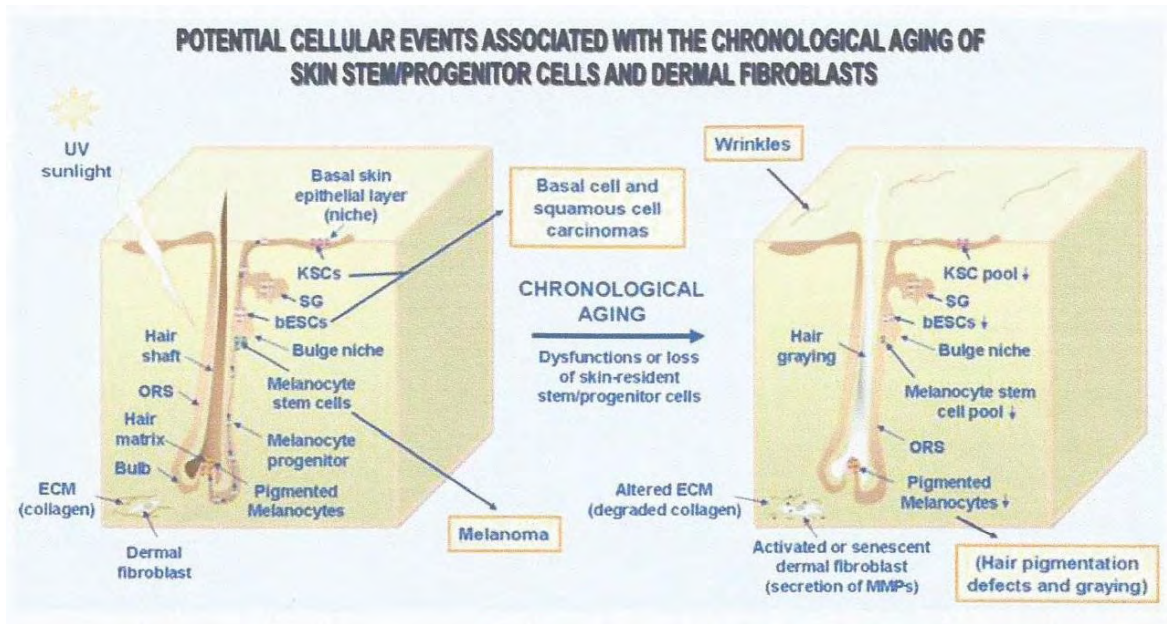


**Εικόνα 4.3. Τα ορόσημα των συνδρόμων προγηρίας.** Η εξάντληση των βλαστοκυττάρων συμβάλλει στη δυσλειτουργία/γήρανση και του δέρματος [López-Otín et al. 2016].

Η εξάντληση των βλαστοκυττάρων, όσον αφορά στη γήρανση του δέρματος περιλαμβάνει 3 φάσεις:

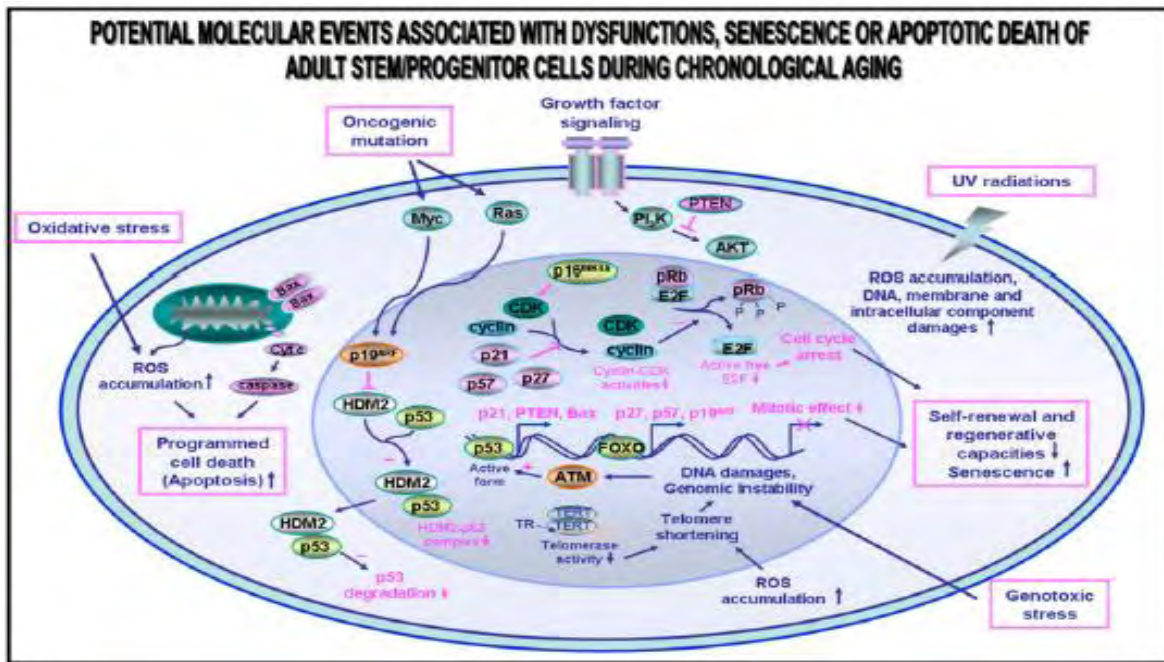
- 1) Παύση της ανάπτυξης, γήρανση, απόπτωση των βλαστοκυττάρων λόγω βράχυνσης των τελομερών, σοβαρής βλάβης του DNA, γενωμικής αστάθειας και οξειδωτικού stress
- 2) Προοδευτική μείωση του αριθμού των βλαστοκυττάρων και της ικανότητας τους για ανανέωση
- 3) Δυσλειτουργία των βλαστοκυττάρων [Peng et al. 2015].

Κατά την πάροδο του χρόνου, με τη γήρανση του δέρματος όλες οι ομάδες των βλαστοκυττάρων του γίνονται δυσλειτουργικές ή/και μειώνονται σε αριθμό (Εικ. 4.4) [Murielle et al. 2010].



**Εικόνα 4.4.** Δυσλειτουργία ή/και μείωση όλων των ομάδων των βλαστοκυττάρων του δέρματος με την πάροδο του χρόνου κατά τη διαδικασία της γήρανσης [Murielle et al. 2010].

Φαινομενικά, θα μπορούσε να θεωρηθεί ότι υπάρχουν κοινοί μηχανισμοί γήρανσης για όλα τα ενήλικα βλαστοκύτταρα, όλων των ιστών του οργανισμού (**Εικ. 4.5**), όμως ουσιαστικά, λίγοι ή ίσως και κανένας μηχανισμός δε μπορεί να γενικευθεί για όλα τα βλαστοκύτταρα [Schultz and Sinclair 2016]. Για το λόγο αυτό, στην παρούσα εργασία θα αναλυθούν οι μηχανισμοί αλλαγής λειτουργίας των βλαστοκυττάρων του δέρματος που συμβάλλουν στη γήρανσή του.



**Εικόνα 4.5.** Δυναμικοί μοριακοί μηχανισμοί που συσχετίζονται με τη δυσλειτουργία, τη γήρανση, την απόπτωση των ενήλικων βλαστοκυττάρων κατά τη χρονολογική γήρανση [Mimeault and Batra 2009].

#### 4.1 ΒΡΑΧΥΝΣΗ ΤΕΛΟΜΕΡΩΝ, ΑΠΩΛΕΙΑ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Η βράχυνση των τελομερών είναι ένας ενδογενής κυτταρικός παράγοντας που θεωρείται ότι οδηγεί στην αναδιπλασιαστική κυτταρική γήρανση. Σε μια μελέτη σε ποντίκια, τα μακρύτερα τελομερή βρέθηκαν σε διαμερίσματα ενήλικων βλαστοκυττάρων, συμπεριλαμβανομένων του τριχοθυλακίου, των όρχεων, του λεπτού εντέρου, του εγκεφάλου και του κερατοειδούς συγκρινόμενα με τα βλαστοκύτταρα άλλων τοποθεσιών. Διαθέσιμα δεδομένα επιδεικνύουν ότι η λειτουργία της τελομεράσης ως νουκλεάση, τρανσφεράση και πολυμεράση, είναι υπεύθυνη για την επιμήκυνση των τελομερών, τη ρύθμιση γονιδιακής έκφρασης, την προστασία έναντι της απόπτωσης και την απάντηση σε βλάβη του DNA [Blasco 2005]. Παρόλα αυτά, ο ρόλος της βράχυνσης των τελομερών στα βλαστοκύτταρα του δέρματος παραμένει αδιευκρίνιστος [Counter et al. 2003, Nakamura et al. 2002].

Στο δέρμα, ανιχνεύσιμα επίπεδα της τελομεράσης και της λειτουργίας της διακρίνονται μόνο σε συγκεκριμένα βλαστοκύτταρα, σε κύτταρα της βασικής στιβάδας της επιδερμίδας [Bickenbach et al. 1998, Taylor et al. 1996], σε κερατινοκύτταρα και σε κύτταρα της περιοχής bulge του τριχοθυλακίου [Bookamp 2005, Ramirez et al. 1997]. Χαμηλά ή καθόλου επίπεδα τελομεράσης ανιχνεύθηκαν στα επιθηλιακά κύτταρα και στους ινοβλάστες του δέρματος ανθρώπου [Funk et al. 2000, Yasumoto et al. 1996, Zouboulis



2003]. Τα βλαστοκύτταρα των διαμερισμάτων του δέρματος θεωρείται ότι είναι εξαρτώμενα από την τελομεράση γιατί η ομοιότητα των ποικίλων συστημάτων του δέρματος φάνηκε να διαταράσσεται σε ποντίκια με δυσλειτουργικά τελομερή ή έλλειψη TERT (καταλυτική υπομονάδα της τελομεράσης). Για παράδειγμα, η βράχυνση των τελομερών φάνηκε να επέρχεται στα βλαστοκύτταρα της επιδερμίδας (ESCs) στα φυσιολογικά ποντίκια με την πάροδο του χρόνου [Flores et al. 2008, 2005] και απομονωμένα ESCs από ποντίκια με έλλειψη τελομεράσης έδειξαν χαμηλή ικανότητα πολλαπλασιασμού *ex vivo* [Flores 2005]. Επίσης, έχει παρατηρηθεί σε K5TRF2<sup>-/-</sup> ποντίκια, με έλλειψη telomere-binding factor 2 (TRF2) υπό τον έλεγχο της ρυθμιστικής περιοχής του γονιδίου της κερατίνης 5 (keratin 5), που ρυθμίζει την ακεραιότητα των τελομερών στα βλαστοκύτταρα των επιθηλίων των διαφόρων ιστών, συμπεριλαμβανομένου και του δέρματος, ότι επιδεικνύουν σοβαρά ελαττώματα/δυσλειτουργίες πρώιμης γήρανσης δέρματος, όπως υπερμελάγχρωση του δέρματος, ξηροδερμία και αυξημένη προδιάθεση να αναπτύξουν καρκίνο του δέρματος [Munoz et al. 2005, Stout and Blasco 2009]. Παρομοίως, η βράχυνση των τελομερών των βλαστοκυττάρων των τριχοθυλακίων σε ποντίκια προτάθηκε ότι οδηγεί σε αστάθεια του DNA/γενωμική αστάθεια και μείωση της λειτουργικότητας των βλαστοκυττάρων, συμπεριλαμβανομένης της ανανέωσης των κερατινοκυττάρων και αναγέννησης των μελανοκυττάρων του θυλάκου κατά τη διάρκεια του κύκλου της τρίχας [Flores et al. 2008]. Επιπλέον, τα συμπτώματα των ασθενών με συγγενή δυσκεράτωση (π.χ. φτωχή ανάπτυξη νυχιών, πρώιμη απώλεια τριχών, γκριζάρισμα μαλλιών και ατροφία δέρματος) συνδέθηκαν ισχυρά με μειωμένου μήκους τελομερή, που οδήγησαν σε ελαττώματα στον πολλαπλασιασμό και στη λειτουργία των βλαστοκυττάρων του δέρματος όπως επίσης και σε φτωχή επούλωση του δέρματος [Mason et al. 2005, Riemann et al. 2008]. Η μελαγχρωματική ξηροδερμία, είναι μια σπάνια αυτοσωμική υπολειπόμενη ασθένεια που χαρακτηρίζεται από συγγενή φωτοευαισθησία και πρώιμη φωτογήρανση, και επίσης εμφανίζει αυξημένη φθορά τελομερών και μειωμένη κυτταρική αναγέννηση [Bohr et al. 1998].

Έτσι, μηχανισμοί έχουν αναπτυχθεί για την πρόληψη της φθοράς των τελομερών των γεννητικών κυττάρων και των βλαστοκυττάρων και για την προστασία τους από τη γήρανση. Για παράδειγμα, η ενεργοποίηση της τελομεράσης, που περιλαμβάνει TERT, TERC, και dyskerin (DKC), μπορεί να αύξησει τα άκρα των χρωμοσωμάτων με ειδικές τελομερικές DNA αλληλουχίες [Tomas-Loba et al. 2008, Collins and Mitchell 2002].

### **Μηχανισμοί συσχετιζόμενοι με τη βράχυνση των τελομερών στα βλαστοκύτταρα**

Μελέτες σε ποντίκια με έλλειψη τελομεράσης έχουν αποκαλύψει ότι η δυσλειτουργία των τελομερών καταστρέφει τη λειτουργία των βλαστοκυττάρων ενεργοποιώντας ενδογενή κυτταρικά σημεία ελέγχου (checkpoints) και προκαλώντας αλλαγές στο μικρο- και μακρο-περιβάλλον των βλαστοκυττάρων. Όταν τα τελομερή φθάσουν ένα κρίσιμο σημείο μήκους, αναγνωρίζονται ως DNA βλάβη και επάγουν τους μηχανισμούς της γήρανσης ή της κρίσης (crisis) και του κυτταρικού θανάτου. Αυτό το

φαινόμενο έχει παρατηρηθεί στους ανθρώπινους ινοβλάστες και στα αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα (HSCs) [Allsopp et al. 2001, Choudhury et al. 2007]. Στους ανθρώπινους ινοβλάστες, η p21, που είναι γνωστός στόχος του p53, φάνηκε να αυξάνεται σταθερά σε ποντίκια που γερνάνε και έχουν δυσλειτουργικά τελομερή, και προάγει τη μόνιμη παύση του κύκλου στο στάδιο G1 σε απάντηση της δυσλειτουργίας των τελομερών. Αυτή η διαδικασία είναι γνωστή όπως αναφέρθηκε ως αναδιπλασιαστική γήρανση [Herbig et al. 2004]. Στα πλαίσια της δυσλειτουργίας των τελομερών, η παύση του κυτταρικού κύκλου και η p53-εξαρτώμενη απόπτωση αντιπροσωπεύουν αντισταθμιστικά σημεία ελέγχου που συμβάλλουν στην ελάττωση της λειτουργίας των βλαστοκυττάρων και της γήρανσης των ιστών [Cosme-Blanco et al. 2007]. Η p53 μπορεί αναλόγως του ερεθίσματος (π.χ. εκτεταμένη DNA βλάβη ή βλάβη που εμφανίζεται σε συγκεκριμένο χρονικό σημείο του κυτταρικού κύκλου) μπορεί να οδηγήσει σε παύση του κυτταρικού κύκλου στη φάση G ή σε αυτοφαγία [Wright and Shay 1992].

Επιπλέον μεταλλάξεις σε γονίδια όπως ATM (ataxia telangectasia mutated), CHK2, Ink4a, με ταυτόχρονη εξάλειψη της p16 και της p19ARF σε ποντίκια με δυσλειτουργικά τελομερή εμφάνισαν δυσλειτουργία των σημείων ελέγχου ως απάντηση στη βλάβη του DNA που οδηγούν σε δυσλειτουργία των τελομερών [Begus-Nahrman et al. 2009, Wong et al. 2003]. Ακόμα, αλλαγές στις συνθήκες του εσωτερικού ή του εξωτερικού περιβάλλοντος όπως η χρόνια υποξία [Adelfack et al. 2001] ή ορμόνες [Emmerson and Hardman 2012] είναι στενά συνδεδεμένα με αλλαγές του μήκους των τελομερών των βλαστοκυττάρων και της λειτουργίας τους [Adams and Scadden 2006].

Όμως, περισσότερες μελέτες πρέπει να γίνουν για να εντοπιστούν οι ακριβείς μηχανισμοί της βράχυνσης των τελομερών που παίζουν ρόλο στη γήρανση του δέρματος [Peng et al. 2015].

## **4.2 ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ, ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ**

Είναι γνωστό ότι τα οιστρογόνα προλαμβάνουν την απώλεια του κολλαγόνου, αυξάνουν το πάχος του δέρματος, επαναφέρουν την ενυδάτωση του δέρματος, προλαμβάνουν την απώλεια των τριχών και προάγουν την επούλωση των τραυμάτων [Brincat 2000b, Azzi 2005] και ότι ασκούν τη δράση τους μέσω της σύνδεσης τους με τους υποδοχείς των οιστρογόνων. Στο δέρμα έχει βρεθεί ισχυρή έκφραση των οιστρογονικών υποδοχέων βήτα (ER beta) στην επιδερμίδα, στους ινοβλάστες του χορίου, στα αγγεία, στα μελανοκύτταρα και στα τριχοθυλάκια [Im et al 2002]. Επίσης, έχει βρεθεί και αυξημένη έκφραση των ER-alpha στα κερατινοκύτταρα της επιδερμίδας και στους ινοβλάστες του χορίου [Verdier-Sevain et al. 2004].

Τα οιστρογόνα μπορούν να ρυθμίσουν άμεσα τη λειτουργία των ινοβλαστών μέσω των ER. Στοιχεία αποδεικνύουν ότι τα οιστρογόνα μπορούν να αυξήσουν το κολλαγόνο μέσω της προαγωγής της παραγωγής TGFβ από τους ινοβλάστες [Ashcroft et al. 1997],



ακόμα, τα οιστρογόνα μπορούν να αντιστρέψουν την επιδερμική ατροφία μέσω της παρακίνησης του πολλαπλασιασμού και της σύνθεσης του DNA των κερατινοκυττάρων [Urano et al 1995]. Έχει καταδειχθεί ότι τα οιστρογόνα καταστέλλουν την απόπτωση των κερατινοκυττάρων και ενεργοποιούν την κυκλίνη D2 ( πρωτεΐνη του κυτταρικού κύκλου), κυρίως μέσω της αλληλεπίδρασης με την GRP30, έναν υποδοχέα της κυτταρικής μεμβράνης, που οδηγεί στην ενεργοποίηση του cAMP (cyclic adenosine monophosphate)/PKA (protein Kinase A) μονοπατιού [Kanda and Watanabe 2004]. Επίσης, μία άλλη μελέτη έδειξε ότι τα οιστρογόνα λειτουργούν και μέσω της επίδρασης σε μια άλλη ρυθμιστική πρωτεΐνη του κυτταρικού κύκλου, της D1 κυκλίνης μέσω της σύνδεσης με τον ER-alpha που ρυθμίζει αρνητικά το μονοπάτι MAPK [Verdier-Sevain et al. 2004]. Η μελάγχρωση του δέρματος επίσης ρυθμίζεται από τα οιστρογόνα. ER-alpha υποδοχείς βρέθηκαν στα μελανοκύτταρα και απαντούν στην επίδραση των οιστρογόνων στην λειτουργία της κινάσης της τυροσίνης στα μελανοκύτταρα [Kippenberger et al. 1998]. Επιπρόσθετα, η ύπαρξη των υποδοχέων των οιστρογόνων ERs (ER-alpha και ER-beta) έχει καταγραφεί κατά την αναγεννή φάση των τριχοθυλακίων. Εκφράζονται κυρίως στα κύτταρα της δερμίδικης θηλής και της περιοχής bulge και ενδέχεται να ρυθμίζουν την ανάπτυξη της τρίχας μέσω της ρύθμισης αυτών των κυττάρων [Obayashi et al. 2013, Thornton et al. 2003]. Όμως, ο ακριβής ρόλος των υποδοχέων των οιστρογόνων στη ρύθμιση της ανάπτυξης των τριχών παραμένει αδιευκρίνιστος.

Αν και τα οιστρογόνα μπορούν άμεσα να επηρεάσουν τα κύτταρα του δέρματος, ο λειτουργικός ρόλος στη ρύθμιση των βλαστοκυττάρων του δέρματος παραμένει άγνωστος. Όμως, ο αναφαινόμενος ρόλος των οιστρογόνων στη ρύθμιση ποικίλων ειδών βλαστοκυττάρων έχει αποκαλυφθεί [Peng et al. 2015].

Τα οιστρογόνα, έχει αναφερθεί, να ασκούν δράσεις στη διαφοροποίηση των embryonic bodies (EBs) προς ενδόδερμα και μεσόδερμα [Kim et al. 2013]. Επίσης, η έλλειψη οιστρογόνων μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα τη δυσλειτουργία της αιματοποίησης [Qiu et al. 2012]. Παρομοίως, σε μία μελέτη, φάνηκε ότι τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα μιας οστεοπορωτικής γυναίκας μπορούν να διαφοροποιηθούν σε οστεοβλάστες μέσω της λειτουργίας των ER-alpha με την ενίσχυση των οιστρογόνων [Chen et al 2012a]. Αυτά κι άλλα δεδομένα, δείχνουν ότι τα οιστρογόνα συμβάλλουν στη ρύθμιση μιας «ποικιλίας βλαστοκυττάρων σε διαφορετικά όργανα» [Chen et al. 2011].

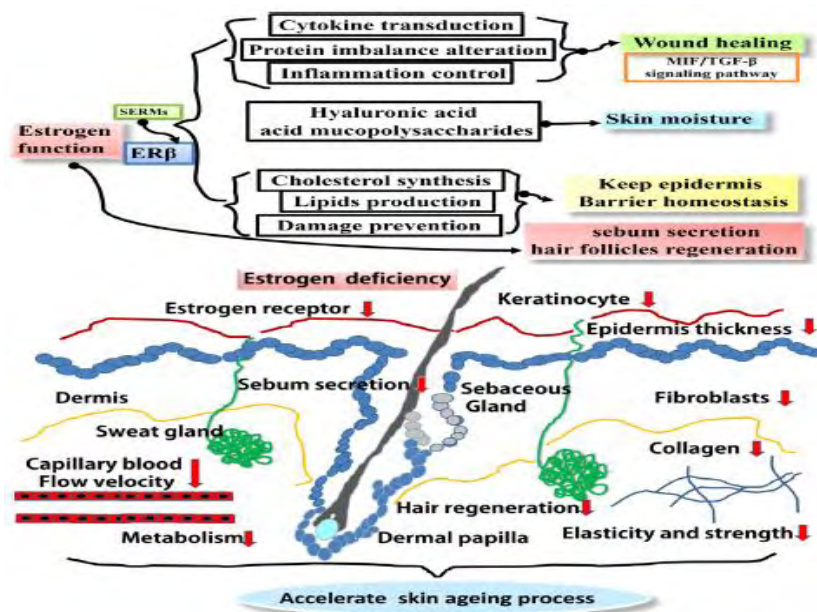
### **Έλλειψη ευαισθησίας στα οιστρογόνα των δερματικών βλαστοκυττάρων και γήρανση του δέρματος**

Η ενδογενής γήρανση του δέρματος αποτελεί το «βιολογικό ρολόι» των κυττάρων του δέρματος, και οι ορμόνες εμπλέκονται αποφασιστικά σε αυτή τη διαδικασία. Τα επίπεδα των οιστρογόνων 17β-E2, DHEA, και της προγεστερόνης μειώνονται με γρήγορο ρυθμό μεταξύ της εμμηνόπαυσης και περίπου την ηλικία των 60 και έπειτα εμφανίζουν ένα επίπεδο-plateau [Morley 2001].

Η μείωση των φυλετικών ορμονών, πρωταρχικώς των οιστρογόνων κατά την εμμηνόπαυση, έχει μια σημαντική επίδραση στο δέρμα, που μπορεί να περιλαμβάνει (Εικ. 4.6): 1) Μειωμένη έκθεση των βλαστοκυττάρων ή των ώριμων κυττάρων στα

οιστρογόνα μέσω των υποδοχέων των οιστρογόνων αμφότερα στο χόριο και στην επιδερμίδα [Raine-Fenning et al. 2003] που οδηγεί στη μείωση του αριθμού των ινοβλαστών και της παραγωγής του κολλαγόνου [Giardina et al. 2010] όπως επίσης μειώνει την ελαστικότητα και τον τόνο του δέρματος, 2) δραματική μείωση της ενυδάτωσης του δέρματος που οφείλεται στην απώλεια των βλεννοπολυσακχαριτών και κυρίως του υαλουρονικού οξέος [Shah and Maibach 2001], και 3) μειωμένη αιμάτωση του δέρματος μέσω των τριχοειδών [Raine-Fenning et al. 2003]. Επιπλέον, η γήρανση του δέρματος επιταχύνεται περισσότερο όταν τα χαμηλά επίπεδα των οιστρογόνων λειτουργούν μαζί με την ενδογενή γήρανση και την φωτογήρανση [Peng et al. 2015].

Αν και, οι αλλαγές των ορμονών που εμφανίζονται με την πάροδο της ηλικίας παίζουν σημαντικό ρόλο στη γήρανση του δέρματος, εν τούτοις ο ακριβής μηχανισμός που συνδέει τα βλαστοκύτταρα του δέρματος και την έλλειψη των ορμονών παραμένει αδιευκρίνιστος [Peng et al. 2015].



Εικόνα 4.6. Η λειτουργία και η επιρροή των οιστρογόνων στο δέρμα [Peng et al. 2015].

### 4.3. ROS (Reactive oxygen species-Αντιδραστικά στοιχεία οξυγόνου), ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Ενδογενή ROS παράγονται άφθονα όταν οι ιστοί είναι πλούσιοι σε οξειδάση της ξανθίνης και σε συνθετάση του νιτρικού οξειδίου ή κάτω από συνθήκες παθολογικού

stress. Τα ROS, που παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στη γήρανση, πρωταρχικά παράγονται από τα μιτοχόνδρια και άλλα ενδοκυττάρια οργανίδια [Chance et al. 1979]. Η παραγωγή των ROS αυξάνεται σημαντικά μετά από έκθεση σε ακτινοβολία UV, με το κάπνισμα κ.α. [Kohen et al. 1999].

### **ROS, βλαστοκύτταρα και φωτογήρανση του δέρματος**

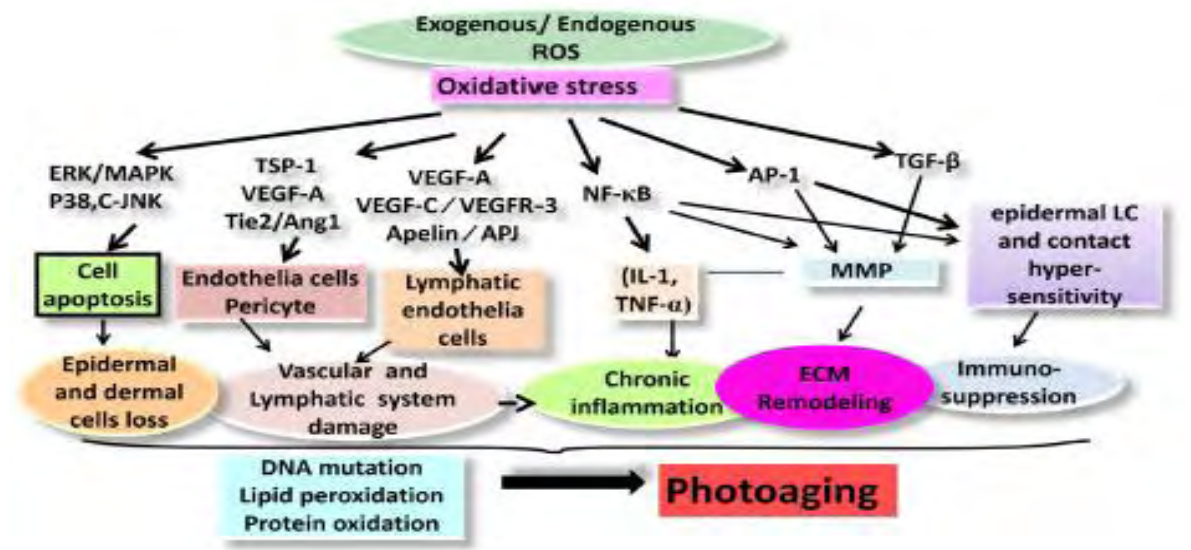
Σε πρόσφατες μελέτες, η έκθεση ανθρώπινων ινοβλαστών του δέρματος σε UV ακτινοβολία έδειξε ότι οδηγεί σε οξειδωτικό stress και ενισχύει την έκφραση των p16INK4A και p53/p21<sup>WAF1/CIP1</sup>, που έχει ως αποτέλεσμα την πρόωμη γήρανση των ινοβλαστών ή/και την μετατροπή των ινοβλαστών σε μυοϊνοβλάστες [Chen et al. 2008]. Τα υψηλά επίπεδα ROS έχουν επίσης ως αποτέλεσμα την αυξημένη έκφραση MMPs (μεταλλοπρωτεϊνών) από τους ινοβλάστες που οδηγεί σε εκτεταμένη αναδόμηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας του χορίου [Kang et al. 2008].

Είναι γνωστό ότι ο πρωταρχικός περιβαλλοντικός παράγοντας που οδηγεί στη διαδικασία της γήρανσης του δέρματος είναι η επαναλαμβανόμενη έκθεση στη UV ακτινοβολία. Μελέτες που χρησιμοποίησαν δείγματα δέρματος που εκτέθηκαν στον ήλιο και άλλα προστατευμένα από τον ήλιο που ελήφθησαν από ηλικιωμένους ανθρώπους, έδειξαν ότι τα βλαστοκύτταρα της επιδερμίδας ή αλλιώς τα βλαστοκύτταρα που είναι υπεύθυνα για την ανανέωση των κερατινοκυττάρων της επιδερμίδας (KSCs) ήταν μειωμένα σημαντικά σε αριθμό στο φωτογηρασμένο σε σύγκριση με το φωτοπροστατευμένο δέρμα [Kwon et al. 2008, Rass and Reichrath 2008]. Συσσωρευμένα στοιχεία επίσης έδειξαν ότι η δυσλειτουργία ή η απώλεια των συγκεκριμένων βλαστοκυττάρων επιδεινώθηκε δραματικά από την προερχόμενη από τα ROS αυξημένη οξείδωση που προκλήθηκε από την έκθεση στον ήλιο [Flores et al. 2008, Kwon et al. 2008]. Παρομοίως, μελέτες έχουν δείξει ότι τα ROS που παράγονται από τα μιτοχόνδρια είναι αυτά που οδηγούν στη γήρανση των ενήλικων βλαστοκυττάρων [George et al. 2011].

Αν και αυξάνονται συνεχώς οι γνώσεις μας για την κατανόηση των καταστροφικών δράσεων των ROS στο δέρμα, εν τούτοις ο ακριβής μηχανισμός που τα ROS οδηγούν στη φωτογήρανση παραμένει αβέβαιος. Έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί ως υπεύθυνοι για τη βλαβερή δράση των ROS στο δέρμα, που οδηγούν στη γήρανση (**Εικ. 4.7**) και είναι οι εξής: 1) Μπορεί να προκαλούν βλάβη στο αγγειακό και λεμφαγγειακό σύστημα μέσω ειδικών μονοπατιών (π.χ. VEGF-C/VEGF-3 μονοπάτι) ή μέσω σημαντικών γονιδίων (π.χ. TSP-1 ή Tie2) [Chung et al. 2002, Kajiyama et al. 2007]. 2) Μπορεί τα ROS να οδηγούν σε δυσλειτουργία ή απώλεια των βλαστοκυττάρων των δέρματος μέσω μονοπατιών που είναι υπεύθυνα είτε για τη μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιαστικού δυναμικού, της διαφοροποίησης, και της επιβίωσης είτε για την παύση του κυτταρικού κύκλου και την απόπτωση [Fischer et al. 2002, Xia et al. 2005]. 3) Τα ROS αυξάνουν την αποδόμηση του κολλαγόνου και των ελαστικών ινών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας με τη θετική ρύθμιση των MMPs και τη μείωση του TGFβ μέσω της AP-1 και του NF-κβ [Sardy 2009, Uitto 2008]. 4) Τα ROS ίσως επιδρούν στην ανοσία του δέρματος μέσω της εξάντλησης των κυττάρων Langerhans του δέρματος και μέσω της καταστολής της υπερευαισθησίας εξ επαφής μέσω της υπεροξειδωσίας των λιπιδίων (lipid peroxidation), της οξειδοαναγωγικής

αναστάτωσης (redox disruption) μέσω των μονοπατιών AP-1 και NF-κβ και της ενεργοποίησης των κυτοκινών (π.χ. ιντερλευκίνη 4 και 10) [Bestak and Halliday 1996, Ullrich 2005].

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι τα ROS προκαλούν βλάβες στο DNA και το τελομερικό DNA είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο στα ROS [Peng et al. 2015].



**Εικόνα 4.7. Οι δράσεις των ROS που οδηγούν σε γήρανση του δέρματος (φωτογήρανση) [Peng et al. 2015].**

#### 4.4 Η ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗ ΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Τα ROS, τα οιστρογόνα και η τελομεράση αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και δε δρουν ανεξάρτητα. Πολύ νωρίς φάνηκε ότι τα οιστρογόνα μπορούν να ενεργοποιήσουν την τελομεράση άμεσα ή έμμεσα ρυθμίζοντας θετικά την καταλυτική υπομονάδα της τελομεράσης, hTERT, που βοηθά στη διατήρηση του μήκους των τελομερών και καθυστερεί την έναρξη της κυτταρικής γήρανσης [Kyo et al. 1999]. Ο ER-alpha ή/και ο ER-beta έχουν καταγραφεί ότι εμπλέκονται στη ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου TERT και στα καρκινικά και στα υγιή βλαστοκύτταρα συμπεριλαμβανομένων και των πρόδρομων αιμοποιητικών κυττάρων του ανθρώπου [Calado et al. 2009, Kandoh et al. 2007]. Η έλλειψη των οιστρογόνων μπορεί να οδηγήσει στην αναστολή της τελομεράσης, στη βράχυνση των τελομερών, στο μειωμένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και στη χαμηλή βιωσιμότητα των πειραματόζωων όπως επίσης σταματά τη διαφοροποίηση των καρκινικών κυττάρων του ανθρώπου [Bayne et al. 2008, Gopalakrishnan et al. 2013, Marconett et al. 2011]. Το οξειδωτικό stress μπορεί να μειώσει το μήκος των τελομερών.

Τα τελομερή είναι πολύ ευαίσθητα στο οξειδωτικό stress, και ιδιαίτερα στα ROS, κυρίως λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας τους σε G-C βάσεις. Επιπλέον, το τελομερικό DNA είναι λιγότερο ικανό να επιδιορθώσει βλάβες μονής έλικας που προκαλούνται από τα ROS, συγκριτικά με το υπόλοιπο DNA [Houben et al. 2008, Oikawa and Kawanishi 1999]. Τα οιστρογόνα, η βράχυνση των τελομερών, το οξειδωτικό stress καθώς και παράγοντες φλεγμονής επηρεάζουν τη διαδικασία της κυτταρικής γήρανσης [Correia-Melo et al. 2014]. Είναι επίσης ενδιαφέρον ότι, η τελομεράση του ανθρώπου μπορεί να καταστείλει τα ROS-εξαρτώμενα ενδοκυττάρια μονοπάτια και την επαγωγή γονιδίων ως απάντηση στον TNF- $\alpha$  [Mattiussi et al. 2012].

Οι ακριβείς μηχανισμοί επίδρασης των ROS, της βράχυνσης των τελομερών και των οιστρογόνων στη κυτταρική γήρανση και στη γήρανση του δέρματος δεν έχουν διαλευκανθεί.

#### **4.5 ΑΛΛΟΙ ΜΟΡΙΑΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΙΔΡΟΥΝ ΣΤΗ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΩΝ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ**

Άλλοι παράγοντες που συμβάλλουν στις αλλαγές των βλαστοκυττάρων και στη γήρανση του δέρματος συμπεριλαμβάνουν τις μεταλλάξεις και τις αλλαγές διαφόρων μορίων μονοπατιών, που επιδρούν στην ενεργοποίηση, τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση, την απόπτωση και την επιβίωση των βλαστοκυττάρων του δέρματος. Για παράδειγμα, ο Wnt και ο MITF (microphthalmia-associated transcription factor) είναι αλλαγμένα στα δυσλειτουργικά βλαστοκύτταρα της περιοχής bulge (bESCs). Αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα το αυξημένο ποσοστό των αποπτωτικών κυττάρων [Espada et al. 2008]. Επιπρόσθετα, η αναστολή ή υπό συνθήκες αφαίρεση (conditional ablation) του Notch/Hes1, Bcl2-εξαρτώμενο SCF/KIT και ρυθμιστικά μόρια του μονοπατιού MITF μπορούν να οδηγήσουν σε σταδιακή ή δραματική μείωση των βλαστοκυττάρων των μελανοκυττάρων της περιοχής bulge [Bouillet et al. 2001, Kumano et al. 2008]. Κληρονομούμενες ή σποραδικές μεταλλάξεις που προκαλούν γενωμική αστάθεια και δυσλειτουργία των ενήλικων βλαστοκυττάρων στο δέρμα είναι ισχυρά συσχετισμένες με σύνδρομα πρόωμης γήρανσης [Calado and Young 2008, Wong et al. 2003].

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΟΙ ΤΡΕΧΟΥΣΕΣ ΑΝΤΙΓΗΡΑΝΤΙΚΕΣ ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ**

### **5.1 ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΤΕΛΟΜΕΡΩΝ ΕΠΕΚΤΕΙΝΟΥΝ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΖΩΗΣ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ**

Η ενεργοποίηση της τελομεράσης φαίνεται να είναι προαπαιτούμενο για να γίνουν τα κερατινοκύτταρα του δέρματος αθάνατα. Η έκφραση του *c-myc* θα μπορούσε να ενεργοποιήσει την τελομεράση στα κερατινοκύτταρα του δέρματος του ανθρώπου [Cerezo et al 2002]. Παρομοίως, ο συνδυασμός χαμηλής TERT με εξωγενή TERC θεωρήθηκε ότι έχει ως αποτέλεσμα υψηλά επίπεδα τελομεράσης ώστε να διατηρούνται τα τελομερή και να μεγαλώνει η διάρκεια ζωής των κερατινοκυττάρων [Gourronc et al. 2010]. Ινοβλάστες του δέρματος και κερατινοκύτταρα έδειξαν αυξημένη ικανότητα πολλαπλασιασμού και έγιναν αθάνατα μετά από εξωγενή, υψηλών επιπέδων έκφραση της TERT [Ramirez 2001] αν και υπάρχουν σημαντικά στοιχεία που δείχνουν ότι η TERT δεν κάνει τα κερατινοκύτταρα αθάνατα από μόνη της [Kiyono et al. 1998]. Ενδιαφέρον είναι ότι, κουνέλια και ποντίκια γενετικά τροποποιημένα έτσι ώστε εκφράζουν TERT ειδικά στην επιδερμίδα έδειξαν αυξημένη ικανότητα επούλωσης τραυμάτων και επιταχυνόμενη αναγέννηση επιδερμίδας και τριχών [Gonzalez-Suarez et al. 2001, Mogford et al. 2006]. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι, διαγονιδιακά ποντίκια που εξέφραζαν TERT είχαν «βελτιωμένο» δέρμα αλλά επίσης και αυξημένα ποσοστά καρκινογένεσης στην επιδερμίδα [Gonzalez-Suarez et al. 2005]. Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι διαγονιδιακά ποντίκια που εξέφραζαν TERT εμφάνισαν αυξημένη έκφραση p16<sup>INK4A</sup> και μια πιο ενεργή μορφή της p53 και οι απόγονοί τους εμφάνισαν σημαντική αύξηση της διάρκειας ζωής και ήταν επίσης ανθεκτικοί στη δημιουργία όγκων [Tomas-Loba et al. 2008]. Αξίζει να αναφέρουμε επίσης ότι, η χρήση θεραπειών στηριζόμενων στη χρήση αδενοϊών με υπερέκφραση TR ή/και TERT έδειξε ενδιαφέροντα αποτελέσματα. Έχει καταδειχθεί ότι μια αυτοσωμική επικρατής μορφή της συγγενούς δυσκεράτωσης, που προκαλείται από μεταλλάξεις του μορίου της TERC στα κύτταρα, μπορεί να αντιστραφεί από την εμφάνιση ελαττωματικών τελομερών με την ταυτόχρονη έκφραση TR και TERT που οδηγεί στην επιμήκυνση των τελομερών [Westin et al 2007]. Έτσι, παρόμοιες θεραπείες στηριζόμενες στα τελομερή όπως επίσης και γενετικά τροποποιημένοι βιολογικοί ιστοί που να εκφράζουν ανθρώπινη TERT θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την πρόληψη της αναδιπλασιαστικής γήρανσης από τη βράχυνση των τελομερών που εμφανίζεται κατά την χρονολογική γήρανση [Shay and Wright 2005a]. Βέβαια, το ότι τα μεγάλα σε μήκος τελομερή θεωρούνται «καλά» σε συνδυασμό με το γεγονός ότι δεν προδιαθέτουν από μόνα τους σε ανάπτυξη καρκίνου, επιβάλλει να γίνουν περαιτέρω μελέτες προκειμένου να κατανοήσουμε τον ακριβή μηχανισμό μέσω του οποίου το μήκος των τελομερών ελέγχεται το πολλαπλασιαστικό δυναμικό των κυττάρων [Shay and Wright 2007, Peng et al 2015].



## 5.2 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΥΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΟΡΜΟΝΩΝ

Τη δεκαετία του 1990, ερευνητές διαπίστωσαν ότι οι υποδοχείς των οιστρογόνων βρίσκονται στα κύτταρα του δέρματος και κυρίως κατανέμονται στα γεννητικά όργανα, στο πρόσωπο και σε περιοχές των κάτω άκρων, σημεία που επηρεάζονται ιδιαίτερα από τη γήρανση [Brincat et al. 2000a]. Ο αριθμός των ERs μειώνεται με την έναρξη της εμμηνόπαυσης στις γυναίκες. Επί του παρόντος, η HRT (θεραπεία οιστρογόνων-προγεστινών) είναι μια στρατηγική αντιμετώπισης των συμπτωμάτων της εμμηνόπαυσης που χρησιμοποιήθηκε επίσης για να επιβραδύνει τη διαδικασία της γήρανσης του δέρματος (Εικ. 5.1) [Cerde et al. 2012].

Hormone replacement therapy for skin aging.

Patients	Treatment	Route	Results and possible mechanism of action
Postmenopausal women	A combination of 2 mg 17 $\beta$ estradiol/10 mg didrogesterone (Femoston) for 28-day	Oral	Increase skin elasticity, hydration, and thickness
Postmenopausal women	0.01% micronized 17 $\beta$ estradiol gel	Topical	Increased epithelial and dermal thickness and collagen amounts caused by increasing the expression of type 1 procollagen mRNA and protein, TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ type II receptor, and Smad3 and reducing MMP-1 protein levels
Postmenopausal women	Estradiol	Topical	Increase procollagen I and III messenger RNA and collagen I protein levels
Human dermal fibroblasts	Adrenal cortex hormone DHEA	Culture	Inhibition of collagenase expression, stimulation of stromelysin-1 mRNA expression, and increase in type 1(1)-procollagen mRNA levels
Postmenopausal women	DHEA	Topical	Increased COL1, COL3, COL5, SPARC, and other genes related to proliferation and differentiation of keratinocytes
Women and men age 60–79 years	DHEA	Oral	Women: improved hydration, epidermal thickness, sebum production, and pigmentation. Men: no effect.
Postmenopausal women	Estrogen	Topical	Prevented collagen loss and increased skin thickness
Postmenopausal women	Estradiol and testosterone	Topical	Offer sustained protection against collagen loss
Postmenopausal women	Estradiol	Topical	Increased skin hydroxyproline levels and procollagen type I carboxy-terminal peptide
Postmenopausal women	Estrogen	Topic	Increase water retention in the stratum corneum and up -regulation of highly hydrophilic macromolecules; such as acid mucopolysaccharides and hyaluronic acids in the dermis
Postmenopausal women	Estrogen	Topic	Prevent wrinkles; improve elastic fibers
In vitro study	Melatonin	Culture	Decrease lipid peroxidation and skin fibroblast and keratinocytes death through inhibition of caspase 9 and caspase 3
Postmenopausal women	Progesterone	Topic	A higher increase in skin firmness and elasticity
		Topic	
Postmenopausal women	Estrogen	Topical	Increase water retention in the stratum corneum and up -regulation of highly hydrophilic macromolecules; such as acid mucopolysaccharides and hyaluronic acids in the dermis
Postmenopausal women	Estrogen	Topical	Prevent wrinkles; improve elastic fibers
In vitro study	Melatonin	Culture	Decrease lipid peroxidation and skin fibroblast and keratinocytes death through inhibition of caspase 9 and caspase 3
Postmenopausal women	Progesterone	Topical	A higher increase in skin firmness and elasticity

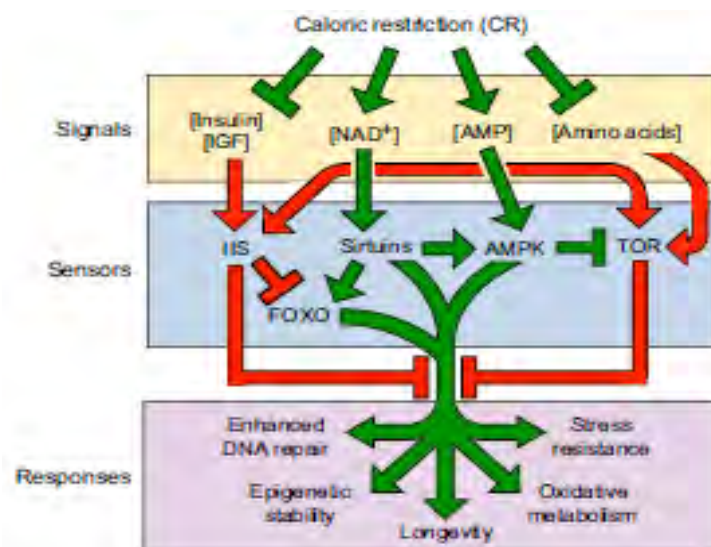
**Εικόνα 5.1. Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης (HRT) για τη γήρανση του δέρματος [Peng et al. 2015].**

### 5.3 ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΘΕΡΜΙΔΩΝ ΚΑΙ ΧΡΗΣΗ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΓΙΑ ΕΠΙΒΡΑΔΥΝΣΗ ΤΗΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η διατροφή περιορισμένων θερμίδων ή θερμιδικός περιορισμός (calorie/caloric restriction - CR) [Weindruch 2009], και η χρήση φαρμακολογικών προϊόντων συμπεριλαμβανομένων αντιφλεγμονωδών και αντιοξειδωτικών μορίων και ενεργοποιητών της αποκετυλάσης των πρωτεϊνών, όπως οι σιρτουίνες (sirtuins - silent information regulators), μπορεί να αποτελούν πιθανές θεραπευτικές στρατηγικές για τη βελτίωση της κυτταρικής επιβίωσης και τη θεραπεία ποικίλων μεταβολικών διαταραχών του δέρματος [Ingram et al. 2006, Neugebauer et al. 2008]. Στην πραγματικότητα η CR και οι αντιγηραντικές θεραπείες με την χρήση αυτών των φαρμακολογικών προϊόντων μπορούν να επηρεάσουν την έκφραση ή/και τη δραστηριότητα σημαντικών μορίων που συμμετέχουν στη φλεγμονή, στο οξειδωτικό stress, τη γήρανση και την απόπτωση των βλαστοκυττάρων του δέρματος κατά τη διάρκεια της χρονολογικής γήρανσης [Pillai et al. 2005, Lavu et al. 2008].

Η CR, βάσει κάποιων πρόσφατων μελετών, φαίνεται να βελτιώνει τους μηχανισμούς αντίστασης των ενήλικων βλαστοκυττάρων, στο μεταβολικό και οξειδωτικό stress, και έτσι να επιμηκύνει τη διάρκεια ζωής (**Εικ. 5.2**) [Ertl et al. 2008, Mantel and Broxmeyer 2008, Trapp and Jung 2006]. Συγκεκριμένα, η CR μπορεί να δρα μέσω της αύξησης της NAD<sup>+</sup>(nicotinamide adenine dinucleotide)-εξαρτώμενης πρωτεΐνης της οικογένειας των αποακετυλασών σιρτουίνης-1 (silent mating type information regulation 2 homolog 1, SIRT-1) στα ενήλικα βλαστοκύτταρα, ένζυμο που είναι υπεύθυνο για τη ρύθμιση της μιτοχονδριακής βιογένεσης και της κυτταρικής απάντησης στο stress [Mantel and Broxmeyer 2008].

Γενικά, οι σιρτουίνες μπορούν να ρυθμίσουν τη δραστηριότητα πολύ σημαντικών γονιδίων συμπεριλαμβανομένων της p53 και των μεταγραφικών παραγόντων της οικογένειας FOXOs (forkhead box O) που συμμετέχουν στη ρύθμιση του κυτταρικού μεταβολισμού, της ανθεκτικότητας στο stress, στη γήρανση και στην απόπτωση, κι έτσι προωθούν την κυτταρική επιβίωση και την επιμήκυνση της διάρκειας ζωής [Lavu et al. 2008, Giannakou and Patridge 2004]. Για παράδειγμα, τα αποτελέσματα μιας μελέτης που περιλάμβανε την τοπική εφαρμογή στο πρόσωπο και στο λαιμό μιας φόρμουλας που περιείχε 1% ενός βιοπεπτιδίου του ζυμομύκητα *Kluyveromyces* που δρα ως ενεργοποιητής της σιρτουίνης-1 έδειξαν ότι 33 γυναίκες ηλικίας 37 έως 64 χρονών, που εφάρμοζαν αυτήν την αντιγηραντική φροντίδα «είδαν» το δέρμα τους βελτιωμένο ως προς ενυδάτωση, τον τόνο και τη μελάγχρωση μετά από 4 βδομάδες θεραπείας [Moreau et al. 2007]. Επίσης, η εφαρμογή αυτής της φόρμουλας μείωσε το ποσοστό της γήρανσης και της απόπτωσης που επάγεται από την UVB ακτινοβολία σε ex vivo καλλιέργεια επιδερμικών κυττάρων που ελήφθησαν από υγιές ανθρώπινο δέρμα [Moreau et al. 2007].



**Εικόνα 5.2. Οι μοριακές δράσεις του θερμιδικού περιορισμού (CR).** Η CR προκαλεί μειωμένα επίπεδα της ινσουλίνης, του ινσουλινομορφου αυξητικού παράγοντα (IGF) και των αμινοξέων και αυξημένα επίπεδα των  $NAD^+$  και AMP. Αυτές οι αλλαγές ανιχνεύονται από το μονοπάτι του IGF (IIS-insulin-IGF signaling), το TOR (Target of Rapamycin), τις σιρτουίνες και τις AMP κινάσες, με αποτέλεσμα την ενίσχυση των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA, τη σταθερότητα του επιγενώματος, την αντοχή στο stress, τον οξειδωτικό μεταβολισμό και τελικά, τη μακροζωία. Όλα αυτά τα σήματα, οι αισθητήρες και οι απαντήσεις τους ρυθμίζουν τη συμπεριφορά των βλαστοκυττάρων. Τα πράσινα βέλη αντιπροσωπεύουν αλληλεπιδράσεις που προωθούν τη μακροζωία και τους σχετικούς με αυτήν φαινοτύπους, και τα κόκκινα βέλη είναι αλληλεπιδράσεις που καταστέλλουν αυτούς τους φαινοτύπους [Schultz and Sinclair 2016].

Μια ενδιαφέρουσα μελέτη έχει δείξει ότι η τοπική εφαρμογή κεκαθαμένου πλακουντιακού σφιγγολιπιδίου (placental sphingolipid) αυξάνει την έκφραση του MITF και των γονιδίων στόχων του μέσω της επαγωγής του p38-stress μονοπατιού και αναπλάθει τα μελανοκύτταρα που παράγουν μελανίνη στον τριχικό θύλακο και επαναχρωματίζει τις τρίχες *in vivo* σε μοντέλα ποντικών C57BL/6J με έναρξη λόγω ηλικίας γκριζαρίσματος τριχών [Stout and Blasco 2009, Davids et al. 2009].

Είναι γνωστό ότι τα αντιοξειδωτικά μόρια και ένζυμα μπορούν να επιβραδύνουν τη διαδικασία της γήρανσης επειδή είτε προλαμβάνουν τις ελεύθερες ρίζες, είτε επειδή εξουδετερώνουν τα ήδη διαμορφωμένα ROS [Thiele 2001]. Τα ενδογενή αντιοξειδωτικά είναι ανεπαρκή για την επιδερμίδα με την πάροδο του χρόνου [Weber et al. 1999]. Για αυτό τοπική εφαρμογή ή χορήγηση μέσω της διατροφής αντιοξειδωτικών χρησιμοποιούνται για να προστατεύσουν το δέρμα από τη γήρανση (Εικ. 5.3) [Peng et al. 2015]. Αξίζει να επισημάνουμε ότι, η τοπική εφαρμογή ρεσβερατρόλης (resveratrol), που βρίσκεται στο κόκκινο κρασί και σε ποικίλα φυτά όπως σταφύλια, φιστίκια, μούρα, πεύκα

και έχει αντιφλεγμονώδεις, αντιοξειδωτικές δράσεις και ενισχύει και τη δράση των σιρτουινών, μπορεί να μειώσει τα επίπεδα των ROS των κυττάρων. Έτσι έχειδειχθεί ότι προλαμβάνει την εξέλιξη δερματικών διαταραχών όπως υπερπλασία και καρκίνος του δέρματος που μπορούν να προκληθούν από την έκθεση στη UVB ακτινοβολία και στο μεταβολικό stress κατά την χρονολογική γήρανση [Trapp and Yung 2006]. Παρά το θεραπευτικό ενδιαφέρον της χρήσης της ρεσβερατρόλης για τη φροντίδα του δέρματος, αυτό το μόριο μπορεί να ενισχύσει συγκεκριμένους τύπους UVA-επαγόμενων θραύσεων των αλυσίδων του DNA και την απόπτωση όπωςδείχθηκε για μια αθανατοποιημένη κυτταρική σειρά ανθρώπινων κερατινοκυττάρων HaCat in vitro [Seve et al. 2005]. Επιπρόσθετα, αξίζει να αναφέρουμε ότι, εκτός από τα αντιοξειδωτικά που αναφέρονται στην **εικόνα 5.3.**, πολλά αντηλιακά προϊόντα περιέχουν πρωτεΐνες, απορροφώμενα λιπίδια και νουκλεοτίδια που χρησιμεύουν στην πρόληψη έναντι της φωτογήρανσης [Puizinalytic et al. 2010].

Πρόσφατα, εξελίξεις στη σύνθεση και στην αξιολόγηση καινούριων αντιοξειδωτικών, και η γρήγορη πρόοδος των τεχνολογιών για το συνδυασμό των αντιοξειδωτικών [McDaniel et al. 2005], και καινούρια πλεονεκτήματα από τις τεχνολογίες μεταφοράς (π.χ. τα λιποσώματα) και από τις συσκευές (π.χ. ιοντοφόρηση) [Gelo-Pujic et al. 2008] έχουν ως αποτέλεσμα καινούρια αντιοξειδωτικά παράγωγα που είναι πιο φωτοσταθερά, βιοδιαθέσιμα, λιποφιλικά και διαπερνώντας το δέρμα [Velasco et al. 2008]. Όμως, η συμβατότητα, η σταθερότητα του προϊόντος, η απορρόφηση από το δέρμα και η ενεργοποίηση αφού φθάσουν στο στόχο είναι ακόμα σημαντικά ζητήματα για τη χρήση των αντιοξειδωτικών. Έτσι, η άριστη δόση και η καλύτερη διαχείριση των αντιοξειδωτικών χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση για την παραγωγή αντιοξειδωτικών με δράσεις φαρμάκων [Mack et al. 2006, Pinnel et al. 2001].



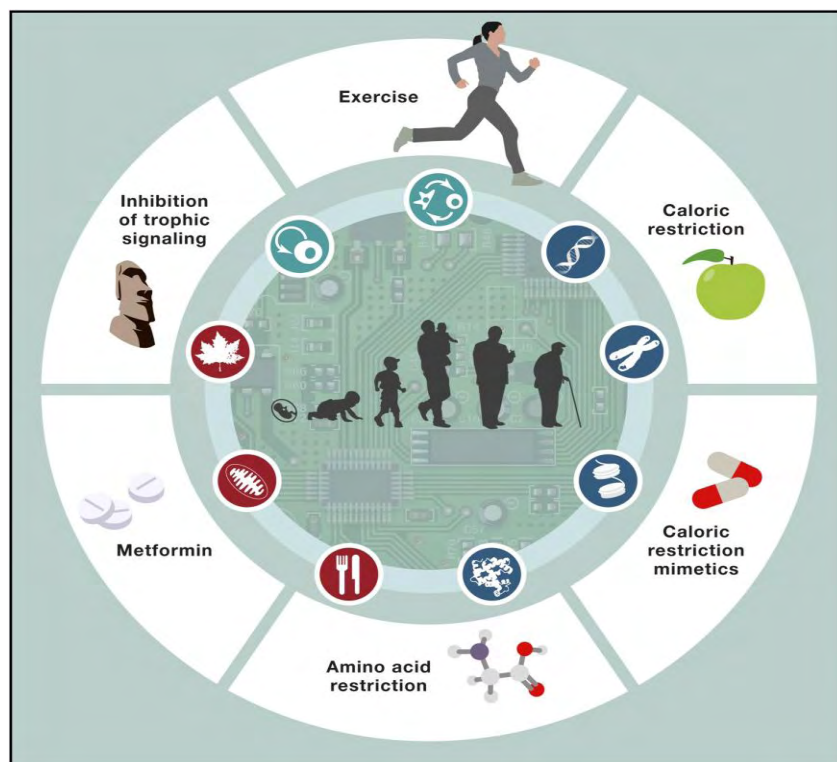
Antioxidants for the inhibition of skin aging.

Name	Clinic effect	Mechanism	Source
Enzymatic antioxidants: superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione reductase, catalase	Neutralizes ROS, protective of both skin keratinocytes and fibroblasts against ROS damage	SOD catalyzes the conversion of two volatile superoxide radicals into less volatile H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> and oxygen. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> is further reduced to water and oxygen with the aid of catalase and GSH peroxidase	Human skin
Nonenzymatic antioxidants: a-tocopherol, ascorbic acid, glutathione, carotenoids, ubiquinone, flavonoids, uric acid	Neutralizes ROS, protective of both skin keratinocytes and fibroblasts against ROS damage	Occupies lipid- and water-soluble compartments of the cell	Human skin
Vitamin C (ascorbyl palmitate, magnesium, ascorbyl phosphate)	Collagen synthesis and the maintenance of hydration and reduction of elastin accumulation, pigment darkening, erythema and immunosuppression	Increases collagen synthesis and reduces MMP (collagenase) expression. Inhibits tyrosinase and protects the epidermal barrier of the skin	Fruits, vegetables
Vitamin E (a-tocopherol acetate, a-tocopherol succinate)	Reduction in lipid peroxidation, photoaging, immunosuppression, and photocarcinogenesis	Decreases MMP-1 transcription levels and inhibits thymine dimer formation. Slows down collagen breakdown and mutagenesis	Fruits, vegetables
Vitamin A (retinols, carotenoids)	Scavenges ROS and quenches lipid peroxidation and antiaging	Binds to nuclear receptors, retinoic acid receptors, and retinoid X, which inhibits AP-1 and MMP-1 expression and increases collagen production and epidermal thickness	Fruits, vegetables
Nicotinamide	Anti-wrinkling effects	Increases skin cell NAD. Enhances epidermal differentiation and barrier function in the skin. Reduces water loss	Fruits, vegetables
Green tea polyphenols (GTP)	Decreases hyperplastic response, edema, myeloperoxidase activity, contact hypersensitivity and immunosuppression	Directly inhibits the expression of MMPs, such as MMP-2 and MMP-9, and potentially inhibits leukocyte elastase	Botanical
Selenium	Diminishes UV-induced blistering, pigmentation, and skin tumors	Optimizes the activity of GSH peroxidase and thioredoxin reductase. Improves vitamin E regeneration	Botanical
Silymarin	Inhibits sunburn cells. Decreases pyrimidine dimers, and skin tumors	Scavenges ROS and prevent lipoprotein oxidation	Botanical
Resveratrol	Reduces erythema photocarcinogenesis	Scavenges ROS and prevent lipoprotein oxidation	Botanical
Growth factors	Improves texture, wrinkle depth, epidermal thickness, and collagen. Reduces amorphous clumping of elastic fibers	Promotes collagen synthesis (TGF-β) and the formation of granulation tissue. Enhance wound strength. Enlarges regenerated dermis, and stabilizes the dermoepidermal junction	Cosmeceuticals
Peptides (glycine proline, and hydroxyproline)	Improves skin firmness and texture, fine lines, and hyperpigmentation	Stimulates the production of collagen	Cosmeceuticals
Hydroquinone	Pigment lightening	Inhibits the activity of tyrosinase and melanin biosynthesis	Cosmeceuticals
Folic acid and creatine	Increases the firmness of skin, and reduces wrinkle volume	Improves DNA synthesis and repair and cellular turnover. Linked to DNA protection	Cosmeceuticals

**Εικόνα 5.3. Αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται για την αναστολή της γήρανσης του δέρματος [Peng et al. 2015].**



Στους μη φαρμακολογικούς παράγοντες που επηρεάζουν τη γήρανση αξίζει να αναφέρουμε την άσκηση (Εικ. 5.4). Στους ανθρώπους, η φυσική κατάσταση και η μακροζωία είναι ισχυρά συνδεδεμένα, συνεπή με την κοινή παρατήρηση ότι η τακτική άσκηση μειώνει τη νοσηρότητα και τη θνητότητα [Neufer et al. 2015]. Στα φυσιολογικά ποντίκια, η «αυθόρμητη» άσκηση δεν επιμηκύνει τη διάρκεια ζωής αλλά επιμηκύνει την «διάρκεια ζωής με υγεία» (healthspan). Η αναγκαστική άσκηση στο μύλο μπορεί να βελτιώσει την αλλοίωση του μεταβολισμού του εγκεφάλου στα προγεροειδή  $Po1g^{D257A/D257A}$  ποντίκια [Clark-Matott et al. 2015]. Στους ανθρώπους χρειάζεται η πραγματοποίηση περαιτέρω ερευνών ώστε να διαλευκανθεί ο μηχανισμός επίδρασης της άσκησης στη διάρκεια ζωής και «διάρκεια ζωής με υγεία» (healthspan) [López-Otín et al. 2016].



**Εικόνα 5.4. Μεταβολικές παρεμβάσεις που βελτιώνουν την μακροζωία.** Δεδομένα από ποικίλους οργανισμούς μοντέλα υποδεικνύουν ότι η γήρανση και οι εκδηλώσεις της μπορούν να καθυστερήσουν την εμφάνισή τους με τακτική άσκηση, CR, Caloric Restriction Mimetics (μικρά μόρια που μιμούνται τη νηστεία αλλά δε συνδέονται με μεγάλη απώλεια βάρους), περιορισμένη πρόσληψη αμινοξέων, αναστολή των «τροφικών» σηματοδοτικών μονοπατιών (για παράδειγμα, με τη ραπαμυκίνη που δρα κυρίως μέσω του μονοπατιού mTOR (mammalian Target of Rapamycin), και μετφορμίνη (ένα αντιδιαβητικό φάρμακο με πολλές μεταβολικές δράσεις). Πιθανόν, αυτές οι παρεμβάσεις να επιμηκύνουν και τη διάρκεια ζωής του ανθρώπου [López-Otín et al. 2016].

## 5.4 ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΒΛΑΣΤΟΚΥΤΤΑΡΩΝ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΩΓΩΝ ΤΟΥΣ ΣΤΗ ΓΗΡΑΝΣΗ ΤΟΥ ΔΕΡΜΑΤΟΣ

Μοριακές μελέτες βασισμένες σε ποικίλα βλαστοκύτταρα, και ειδικότερα σε βλαστοκύτταρα προερχόμενα από τον λιπώδη ιστό (adipose derived stem cells-ADSCs) δημιουργούν μεγάλες προσδοκίες για τη θεραπεία της γήρανσης του δέρματος [Kim et al 2008a,b, Park et al. 2008]. Έδειξαν αντιρυτιδικές δράσεις, αύξηση της λεύκανσης του δέρματος, αντιοξειδωτικές δράσεις, ακόμα και βελτίωση της επούλωσης των τραυμάτων του δέρματος με την ικανότητά τους για ποικίλη διαφοροποίηση και με την έκκριση παρακρινικών παραγόντων (Εικ. 5.5 και 5.6).



Εικόνα 5.5. Θεραπείες της γήρανσης του δέρματος βασισμένες στα βλαστοκύτταρα [Peng et al. 2015].

<b>Growth factor, cytokine, protein</b>	<b>Role in skin biology</b>
Bone morphogenetic protein 5 (BMP-5)	Regulates number and size of keratinocytes
Collagen, type I	Part of skin ECM
Epidermal growth factor (EGF)	Most potent mitogen of fibroblasts and keratinocytes
Fibroblast growth factor (FGF)	Induces proliferation of fibroblasts and keratinocytes Induces collagen synthesis in dermis
Fibronectin	Part of skin ECM
Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)	Secreted by keratinocytes shortly after injury to induce wound healing Cytokine for fibroblasts in skin
Growth differentiation factor 15 (GDF-15)	Regulation of keratinocyte differentiation
Growth hormone (GH)	Induces growth of keratinocytes and fibroblasts Induces wound healing
Hepatocyte growth factor (HGF)	Involved in tissue regeneration and wound healing
Heparin binding epidermal growth factor	Mitogen for fibroblasts and keratinocytes
Insulin-like growth factor and binding proteins 1 and 2 (IGF, IGF-BP1, IGF-BP2)	Mitogen for fibroblasts and endothelial cells
Keratinocyte growth factor (KGF)	Stimulates re-epithelialization and hair growth
Placenta growth factor (PGF)	Mitogen for fibroblasts and promotes growth of endothelial cells
Platelet-derived growth factor-AA, (PDGF-AA) and receptors	Induces fibroblast migration and matrix production
Transforming growth factor- $\beta$ 1, - $\beta$ 2 (TGF- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 2)	Induces keratinocyte, fibroblast, macrophage migration Regulates angiogenesis Initiates collagen and fibronectin synthesis
Vascular endothelial growth factor (VEGF)	Mediates angiogenesis

**Εικόνα 5.6. Αυξητικοί παράγοντες, κυτοκίνες και άλλες πρωτεΐνες που εκκρίνονται από τα βλαστοκύτταρα του λιπώδους ιστού του ανθρώπου ή/και από ανθρώπινα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα [Draelos 2016].**

Η *in vivo* διέγερση των ενδογενών πρόδρομων κυττάρων του δέρματος (endogenous skin progenitors - SKPs) ή η χρήση των *ex vivo* αναπτυγμένων ενήλικων βλαστοκυττάρων ή των προγόνων τους αντιπροσωπεύουν υποσχόμενες στρατηγικές για τη νεαροποίηση (juvenescence) του γερασμένου δέρματος [Kung et al. 2008, Yoshiwaka et al. 2008]. Πολυδύναμα βλαστοκύτταρα του χορίου (dermal multipotent cells-DMSCs) κι άλλα βλαστοκύτταρα αποδείχθηκαν αποτελεσματικά στην πρόληψη της γήρανσης του δέρματος με την αύξηση του κολλαγόνου τύπου I και του πάχους του χορίου [Song et al. 2011, Xue and Li 2011]. Η ενσωμάτωση των κυττάρων του θηλώδους χορίου (dermal sheath cells-DSCs) σε δερματικά ισοδύναμα μπορεί να αυξήσει τον αριθμό των βλαστοκυττάρων της επιδερμίδας (KSCs) και την ικανότητα της επιδερμίδας για ανανέωση [Kim et al. 2009]. Διάφορες μελέτες έχουν επίσης αποκαλύψει τις ευεργετικές δράσεις της χρήσης DMSCs και BM-MSCs για την αντικατάσταση των κυττάρων του δέρματος και για την μηχανική των ιστών [Wu et al. 2007, Zhang and Fu 2008]. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι, τεχνητά τριχοθυλάκια κατασκευασμένα με τη βοήθεια της βιοτεχνολογίας χρησιμοποιώντας ενήλικα βλαστοκύτταρα εξαγόμενα από ιστό τριχοθυλακίου ανέπτυξαν σωστές δομές και συνδέσεις με τους περιβάλλοντες ιστούς [Toyoshima 2012]. Μια ευεργετική ενίσχυση της λειτουργίας της επιδερμίδας ως φραγμού παρατηρήθηκε με την εφαρμογή ενός εκχυλίσματος από βλαστοκύτταρα samphire [Caucanas et al. 2011]. Παρομοίως, ανανέωση του γερασμένου δέρματος επιτεύχθηκε με τη χρήση ADSCs και υαλουρονικού οξέος [Altman et al. 2010].

Όσον αφορά στη χρήση ανθρώπινων επαγόμενων πολυδύναμων βλαστοκυττάρων (hiPSCs), που ανακαλύφθηκαν από τους Takahashi και Yamanaka [Takahashi and Yamanaka 2006], έχει ήδη επισημανθεί στην ανάπτυξη θεραπειών βασιζόμενων σε κύτταρα σε διάφορες διαταραχές, συμπεριλαμβανομένων καρδιολογικών, μεταβολικών και αιμοποιητικών [Unternaeherer and Daley 2011]. Πράγματι, η χρήση των hiPSCs είναι ελπιδοφόρα στη παθοφυσιολογία και στην ανανέωση του δέρματος. Η χρήση των hiPSCs για τη θεραπεία της πομφολυγώδους επιδερμόλυσης (epidermolysis bullosa) μέσω της προσθήκης κερατινοκυττάρων και ινοβλαστών προερχόμενα από hiPSCs είναι εντυπωσιακή [Uitto 2011]. Δημιουργία κερατινοκυττάρων με μεγάλη αποτελεσματικότητα ή/και δημιουργία ανθρώπινων επιθηλιακών βλαστοκυττάρων ή/και δημιουργία 3D δερματικών ισοδύναμων αποκλειστικά από hiPSCs δείχνουν ότι τα hiPSCs έχουν την δυνατότητα να θεραπεύσουν ειδικές δερματικές ασθένειες αλλά και να συμβάλλουν στην ανανέωση του δέρματος [Itoh et al. 2011, 2013, Yang et al. 2014]. Επίσης έχει αναφερθεί ότι, τα iPSCs μπορούν να διαφοροποιηθούν *in vitro* σε κερατινοκύτταρα με την προσθήκη ρετινοϊκού οξέος και bone morphogenetic protein-4 και καλλιεργούμενα σε collagen IV-coated τριβλία [Bilousova et al. 2011]. Τα iPSCs μπορούν να διαφοροποιηθούν *in vitro* σε μελανοκύτταρα με την προσθήκη differentiation medium με Wnt3a, SCF και ET-3 [Otta et al. 2011].

Επιπρόσθετα, μηχανιστικές κυτταρικές τροποποιήσεις των SKPs μπορούν επίσης να βελτιώσουν την κατάσταση του γερασμένου δέρματος. Για παράδειγμα, η

ενεργοποίηση του Wnt/ $\beta$ -catenin μονοπατιού επάγει την αποδιαφοροποίηση των γερασμένων επιδερμικών κυττάρων [Zhang et al. 2012]. Ακόμα, τα DMSCs έδειξαν να καταστέλλουν τη φωτογήρανση με την ενεργοποίηση του TGF- $\beta$ /Smad και του p38/MAPK μονοπατιού [Zhong et al. 2011]. Η ανασυνδυσασμένη ανθρώπινη ερυθροποιητίνη φάνηκε να έχει ζωτικό ρόλο ως ενεργοποιητής των τοπικών βλαστοκυττάρων και είναι ικανή να αντιστρέφει τη δερματική βλάβη [Bardier and Machens 2010]. Η  $\alpha$ -catenin, ένα μόριο σύνδεσης προσκόλλησης, χαρακτηρίστηκε ως ρυθμιστής του πολλαπλασιασμού των ESC και καταστολέας του καρκίνου του δέρματος μέσω της αναστολής των Yap και μέσω του Hippo growth ρυθμιστικού μονοπατιού [Flores and Harder 2011]. Η SKP-ing Tap63, μια από τις ισομορφές της p63 που εκφράζεται στα προερχόμενα από το δέρμα προγονικά κύτταρα, αποδείχθηκε να έχει ζωτικό ρόλο στη συντήρηση των προγονικών κυττάρων της επιδερμίδας και του χορίου, στη γενωμική σταθερότητα και στη διάρκεια ζωής του οργανισμού [Beaudry and Attardi 2009]. Επίσης, η ίδια πρωτεΐνη φάνηκε ότι μειώνει την έκφραση των δεικτών  $\beta$ 1 Integrin και MCSP των βλαστοκυττάρων, που σχετίζονται με την γήρανση του δέρματος του ανθρώπου [Giangreco et al. 2010]. Πιο πρόσφατα, αναφέρθηκε ότι, το PI3K-Akt μονοπάτι μπορεί να αναστείλει τη γήρανση και να προωθήσει την αυτό-ανανέωση των προγονικών κυττάρων-προερχόμενων από δέρμα του ανθρώπου *in vitro* και να βελτιώσει την αναγέννηση του δέρματος [Liu et al. 2011].

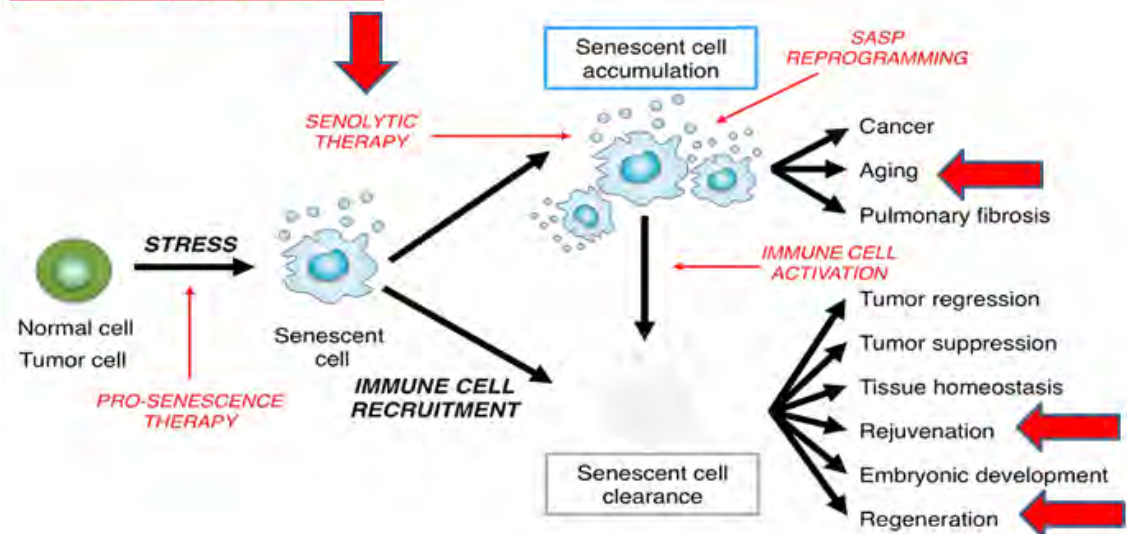
## Μελλοντικές κατευθύνσεις

Αξίζει να αναφερθεί ότι στις μελλοντικές κατευθύνσεις της θεραπείας της γήρανσης του δέρματος με βλαστοκύτταρα συμπεριλαμβάνονται η *ex vivo* επαναφορά των χαρακτηριστικών της νεότητας των βλαστοκυττάρων ακολουθούμενη από επανατοποθέτηση τους [Bernet 2014, Cosgrove et al. 2014] αλλά και η πιθανότητα διαγραφής/εκκαθάρισης του δέρματος από τα γερασμένα (senescent cells) ή δυσλειτουργικά βλαστοκύτταρα (Εικ. 5.7) [Baker et al. 2011]. Η εκκαθάριση των γερασμένων κυττάρων μπορεί να γίνει με την χρήση των λεγόμενων «senolytic» φαρμακολογικών προϊόντων που επάγουν το θάνατο των γερασμένων κυττάρων [Roos et al. 2016]. Η εκκαθάριση των συγκεκριμένων κυττάρων στα BubR1 υπομορφικά ποντίκια με προγηρία καθυστέρησαν την έναρξη του φαινοτύπου της γήρανσης [Childs et al. 2015]. Η ίδια διαδικασία φάνηκε να είναι μια αποτελεσματική στρατηγική για την ανανέωση των βλαστοκυττάρων των ιστών των φυσιολογικά γερασμένων ποντικών [Chang et al. 2016].



## To clear, or not to clear (senescent cells)?

### That is the question



#### **Εικόνα 5.7. Εκκαθάριση των γερασμένων κυττάρων και θεραπευτικές επιλογές.**

Η κυτταρική γήρανση είναι κάτι περισσότερο από ένα «αντι-πολλαπλασιαστικό» πρόγραμμα. Τα γερασμένα κύτταρα εκκρίνουν παράγοντες που απαρτίζουν το SASP (senescence-associated secretory phenotype/ σχετιζόμενος με τη γήρανση εκκριτικός φαινότυπος). Η κυτταρική γήρανση ακολουθείται με διαδικασία εκκαθάρισης των γερασμένων κυττάρων με τις διαδικασίες που θεωρούνται ευεργετικές. Όμως, αν η μείωση των γερασμένων κυττάρων δεν συμβεί, τα γερασμένα κύτταρα συσσωρεύονται και μπορούν να οδηγήσουν σε γήρανση ή/και καρκίνο. Διαφορετικές θεραπευτικές στρατηγικές (κόκκινα γράμματα) μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να εκμεταλλευθούμε τις ευεργετικές πτυχές της κυτταρικής γήρανσης και να καταστείλουμε τις αρνητικές πτυχές της [Lujambio et al. 2016].



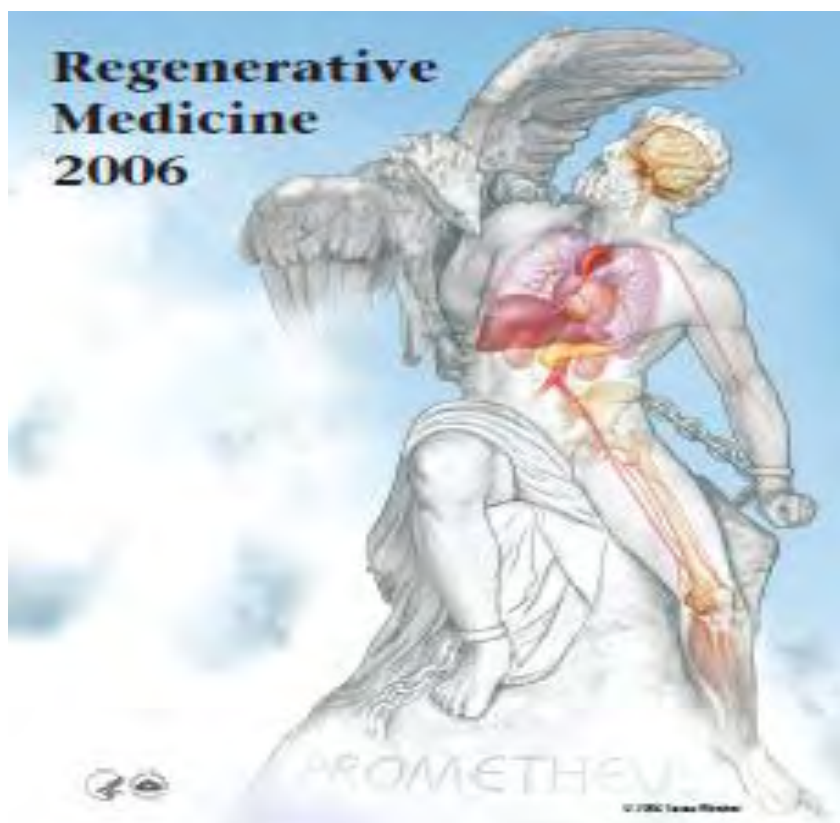
## **ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ**

Υπάρχουν πολλά είδη βλαστοκυττάρων στο δέρμα, στα οποία οφείλεται κι η ανανέωση των περισσότερων κυττάρων του. Σε αυτά περιλαμβάνονται: α) τα βλαστοκύτταρα της επιδερμίδας/ μεταξύ των τριχοθυλακίων της επιδερμίδας, β) τα βλαστοκύτταρα της περιοχής bulge των τριχοθυλακίων, γ) τα βλαστοκύτταρα των σμηγματογόνων αδένων, δ) τα βλαστοκύτταρα που είναι υπεύθυνα για την ομοιόσταση των μελανοκυττάρων και ε) τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα του δέρματος [Peng et al. 2015].

Η εξάντληση των συγκεκριμένων βλαστοκυττάρων σίγουρα συμβάλλει στη γήρανση του δέρματος. Αν και οι ακριβείς μηχανισμοί δεν είναι γνωστοί, σε αυτούς συμμετέχουν: α) η βράχυνση τελομερών/απώλεια τελομεράσης, β) αλλαγές στο μικροπεριβάλλον των βλαστοκυττάρων, γ) το οξειδωτικό stress-ROS, δ) άλλοι μοριακοί παράγοντες και ε) επιγενετικές αλλαγές [López-Otín et al. 2016, Schultz and Sinclair 2016, López-Otín et al. 2013, Peng et al 2015].

Υπάρχουν διάφορες παρεμβάσεις που μπορούν να καθυστερήσουν την έναρξη ή την εξέλιξη της γήρανσης του δέρματος και των διαταραχών της σε πειραματόζωα αλλά καμία δεν έχει αποδειχθεί στον άνθρωπο. Σε αυτές περιλαμβάνονται η ενεργοποίηση της τελομεράσης, η χρήση φαρμακολογικών και μη φαρμακολογικών παραγόντων και οι εφαρμογές βλαστοκυττάρων και ουσιών που παράγονται από αυτά. [López-Otín et al. 2016, Peng et al 2015]. Όσον αφορά στις μελλοντικές κατευθύνσεις της θεραπείας της γήρανσης του δέρματος με βλαστοκύτταρα, επισημαίνεται η ex vivo επαναφορά των χαρακτηριστικών της νεότητας των βλαστοκυττάρων ακολουθούμενη από την επανατοποθέτησή τους [Bernet 2014, Cosgrove et al. 2014], αλλά και η πιθανότητα διαγραφής/εκκαθάρισης του δέρματος από τα γερασμένα ή δυσλειτουργικά βλαστοκύτταρα [Roos et al. 2016, Childs et al. 2015, Chang et al. 2016].

Εφόσον λοιπόν, τα βλαστοκύτταρα συγκαταλέγονται στα μακροβιότερα κύτταρα σε έναν οργανισμό, πιθανόν θα μπορούσαν να θεωρηθούν οδηγοί για τη γήρανση αλλά και για την υγεία και τη μακροβιότητα ενός οργανισμού. Μολονότι, οι φαινότυποι και οι μηχανισμοί ποικίλουν, σε όλους τους πληθυσμούς των βλαστοκυττάρων φαίνεται να μειώνεται η λειτουργία τους κατά τη διαδικασία της γήρανσης. Με την καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών συμμετοχής των βλαστοκυττάρων στη γήρανση, θα καταφέρουμε ίσως κάποια μέρα να ανανεώνουμε τους γερασμένους ιστούς, αυξάνοντας με αυτόν τον τρόπο τη διάρκεια της υγιούς ζωής του ανθρώπου.



**Ο Έλληνας Τιτάνας Προμηθέας, ένα ταιριαστό σύμβολο για την Αναγεννητική Ιατρική.** Ως τιμωρία επειδή παρέδωσε τη φωτιά στους ανθρώπους, ο Δίας διέταξε να δεθεί ο Προμηθέας σε ένα βράχο και έστελνε κάθε μέρα έναν αετό για να τρώει το ήπαρ του. Παρόλα αυτά, το ήπαρ του Προμηθέα ήταν ικανό να αναγεννιέται κάθε μέρα, δίνοντας του έτσι τη δυνατότητα της επιβίωσης. Οι επιστήμονες ευελπιστούν να καταστήσουν τον μύθο της αναγέννησης αληθινό μέσω της ανάπτυξης νέων θεραπειών που αποκαθιστούν τα κατεστραμμένα, φέροντα βλάβες ή γερασμένα κύτταρα και ιστούς του ανθρώπινου σώματος  
[[http://stemcells.nih.gov/staticresources/info/scireport/PDFs/Regenerative\\_Medicine\\_2006.pdf](http://stemcells.nih.gov/staticresources/info/scireport/PDFs/Regenerative_Medicine_2006.pdf)].

## **BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

- Adams and Scadden** (2006), The hematopoietic stem cell in its place. *Nat. Immunol.* 7: 333-337
- Adelfalk et al.** (2001), Accelerated telomere shortening in Fanconi anemia fibroblasts—a longitudinal study. *Fed. Eur. Biochem. Soc. Lett.* 506: 22-26.
- Allsopp et al.** (2001), Telomere shortening accompanies increased cell cycle activity during serial transplantation of hematopoietic stem cells. *J. Exp. Med.* 193: 917-924
- Alonso and Fuchs** (2003), Stem cells in the skin: waste not, Wnt not. *Genes & Development* 17: 1189-1200
- Altman et al.** (2010), Human tissue-resident stem cells combined with hyaluronic acid gel provide fibrovascular-integrated soft-tissue augmentation in a murine photoaged skin model. *Plast. Reconstr. Surg.* 125: 63-73
- Ashcroft et al.** (1997), Estrogen accelerates cutaneous wound healing associated with an increase in TGF-beta1 levels. *Nat. Med.* 3: 1209-1215
- Azzi et al.** (2005), Gender differences in mouse skin morphology and specific effects of sex steroids and dehydroepiandrosterone. *J. Investig. Dermatol.* 124: 22-27
- Bader and Machens** (2010), Recombinant human erythropoietin plays a pivotal role as a topical stem cell activator to reverse effects of damage to the skin in aging and trauma. *Rejuvenation Res.* 13: 499-500
- Bayne et al.** (2008), Estrogen deficiency leads to telomerase inhibition, telomere shortening and reduced cell proliferation in the adrenal gland of mice. *Cell Res.* 18: 1141-1150
- Beaudry and Attardi** (2009), SKP-ing TAp63: stem cell depletion, senescence, and premature aging. *Cell Stem Cell* 5: 1-2
- Begus-Nahrmann et al.** (2009), p53 deletion impairs clearance of chromosomal-instable stem cells in aging telomere-dysfunctional mice. *Nat. Genet.* 41: 1138-1143
- Bernet et al.** (2014), p38 MAPK signaling underlies a cell-autonomous loss of stem cell self-renewal in skeletal muscle of aged mice. *Nat. Med.* 20: 265-271
- Bernstein et al.** (1995), Ultraviolet radiation activates the human elastin promoter in transgenic mice: a novel in vivo model of cutaneous photoaging. *J Invest Dermatol* 105: 269-273

**Bestak and Halliday** (1996), Chronic low-dose UVA irradiation induces local suppression of contact hypersensitivity, Langerhans cell depletion and suppressor cell activation in C3H/HeJ mice. *Photochem. Photobiol.* 64: 969-974

**Bickenbach et al.** (1998), Telomerase is not an epidermal stem cell marker and is downregulated by calcium. *J. Investig. Dermatol.* 111: 1045-1052

**Bilousova et al.** (2011), Differentiation of Mouse Induced Pluripotent Stem Cells into a Multipotent Keratinocyte Lineage. *J Invest. Dermatol.* 131: 857-864

**Blanpain and Fuchs** (2009), Epidermal homeostasis: a balancing act of stem cells in the skin. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 10: 207-217

**Blanpain et al.** (2004), Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche. *Cell* 118: 635-648

**Blanpain and Fuchs** (2006 $\alpha$ ), Epidermal stem cells of the skin. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 22: 339-373

**Blanpain et al.** (2006 $\beta$ ), Canonical notch signaling functions as a commitment switch in the epidermal lineage. *Genes Dev.* 20: 3022-3035

**Blasco** (2005), Telomeres and human disease: aging, cancer and beyond. *Nat. Rev. Genet.* 6: 611-622.

**Bologna** (1993), Dermatologic and cosmetic concerns of the older woman. *Cin Geriatr. Med.* 9: 209-229

**Bohr et al.** (1998), DNA repair and transcription in human premature aging disorders. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc. Soc. Investig. Dermatol., Inc. Eur. Soc. Dermatol. Res.* 3: 11-13

**Bouillet et al.** (2001), Degenerative disorders caused by Bcl-2 deficiency prevented by loss of its BH3-only antagonist Bim. *Dev. Cell* 1: 645-653

**Boukamp** (2005), Skin aging: a role for telomerase and telomere dynamics? *Curr. Mol. Med.* 5: 171-177

**Braun et al.** (2003), Manipulation of stem cell proliferation and lineage commitment: visualisation of label-retaining cells in wholemounts of mouse epidermis. *Development* 130(21): 5241-5255.

**Brincat** (2000a), Hormone replacement therapy and the skin. *Maturitas* 35: 107-117

- Brincat** (2000b), Hormone replacement therapy and the skin: beneficial effects: the case in favor of it. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 79: 244-249.
- Calado** (2009), Sex hormones, acting on the TERT gene, increase telomerase activity in human primary hematopoietic cells. *Blood* 114: 2236-2243
- Calado and Young** (2008), Telomere maintenance and human bone marrow failure. *Blood* 111: 4446-4455
- Campisi** (2001), From cells to organisms: can we learn about aging from cells in culture? *Exp. Gerontol.* 36: 607-618
- Caucanas et al.** (2011), Dynamics of skin barrier repair following preconditioning by a biotechnology-driven extract from samphire (*Crithmum maritimum*) stem cells. *J. Cosmet. Dermatol.* 10: 288-293
- Cerda et al.** (2012), Identification of clinical features and laboratory abnormalities associated with the development of vertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis. *Med. Clin.* 139: 626-630
- Cerezo et al.** (2002), Dual regulation of telomerase activity through c-Myc-dependent inhibition and alternative splicing of hTERT. *J. Cell Sci.* 115: 1305-1312
- Chance et al.** (1979), Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol. Rev.* 59: 527-605
- Chang et al.** (2016), Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice. *Nat. Med.* 22: 78-83
- Chen et al.** (2008), p53-related apoptosis resistance and tumor suppression activity in UVB-induced premature senescent human skin fibroblasts. *Int. J. Mol. Med.* 21: 645-653
- Chen et al.** (2011), Effects of estrogen on proliferation and migration of human epidermal stem cells in vitro. *Chin. J. Repar. Reconstr. Surg.* 25: 134-138
- Chen et al.** (2012a), The protective effect of 17beta-estradiol against hydrogen peroxide-induced apoptosis on mesenchymal stem cell. *Biomed. Pharmacother.* 66: 57-63
- Chen et al.** (2012b), The role of antioxidants in photoprotection: a critical review. *J. Am. Acad. Dermatol.* 67: 1013-1024
- Chen et al.** (2013), Estrogen modulates osteogenic activity and estrogen receptor mRNA in mesenchymal stem cells of women. *Climact.: J. Int. Menopause Soc.* 16: 154-160

- Cheung et al.** (2015), Stem cell aging in adult progeria. *Cell Regeneration* 4(6): 1-9
- Childs et al.** (2015), Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy. *Nat. Med.* 21: 1424-1435
- Choudhury et al.** (2007), Cdkn1a deletion improves stem cell function and lifespan of mice with dysfunctional telomeres without accelerating cancer formation. *Nat. Genet* 39: 99-105.
- Chung et al.** (2002), Differential effects of photoaging vs intrinsic aging on the vascularization of human skin. *Arch. Dermatol.* 138: 1437-1442
- Clark-Matott et al.** (2015), Metabolomic analysis of exercise effects in the POLG mitochondrial DNA mutator mouse brain. *Neurobiol. Aging* 36: 2972-2983
- Collins and Mitchell** (2002), Telomerase in the human organism. *Oncogene* 21: 564-579
- Correia-Melo et al.** (2014), Telomeres, oxidative stress and inflammatory factors: partners in cellular senescence? *Longev. Healthspan* 3: 1
- Cosgrove et al.** (2014), Rejuvenation of the muscle stem cell population restores strength to injured aged muscles. *Nat. Med.* 20: 255-264
- Cosme-Blanco et al.** (2007), Telomere dysfunction suppresses spontaneous tumorigenesis in vivo by initiating p53-dependent cellular senescence. *EMBO Rep.* 8: 497-503.
- Counter et al.** (2003), Telomere shortening in cultured autografts of patients with burns. *Lancet* 361: 1345-1346.
- Dauids et al.** (2009), A rare repigmentation pattern in a vitiligo patient: a clue to an epidermal stem-cell reservoir of melanocytes? *Clin. Exp. Dermatol.* 34: 246-248
- Delmas et al.** (2011), Molecular mechanisms of mechanotransduction in mammalian sensory neurons. *Nat. Rev. Neuroscience* 12: 139-153
- Draelos Diana** (2016), *Cosmeceuticals* 3<sup>rd</sup> ed., Elsevier
- Emmerson and Hardman** (2012), The role of estrogen deficiency in skin aging and wound healing. *Biogerontology* 13: 3-20.
- Encyclopedia Britannica.** [www.britannica.com/science/aging-life-process](http://www.britannica.com/science/aging-life-process)
- Ertl et al.** (2008), Effects of dietary restriction on hematopoietic stem-cell aging are genetically regulated. *Blood.* 111: 1709-1716



**Espada et al.** (2008), Nuclear envelope defects cause stem cell dysfunction in premature-aging mice. *J. Cell Biol.* 181: 27-35.

**Estrach et al.** (2008), Role of the notch ligand delta1 in embryonic and adult mouse epidermis. *J. Invest. Dermatol.* 128, 825-832

**Farage M. et al.** (2010), *Textbook of Aging Skin*, Springer

**Fernandez-Fernandez et al.** (2012), LMN diet, rich in polyphenols and polyunsaturated fatty acids, improves mouse cognitive decline associated with aging and Alzheimer's disease. *Behav. Brain Res.* 228: 261-271

**Fitzpatrick and Morelli** (2011), *Dermatology Secrets Plus* 4<sup>th</sup> ed., Elsevier

**Fisher et al.** (1996), Molecular basis of sun-induced premature skin ageing and retinoid antagonism. *Nature* 379: 335-339

**Fisher et al.** (2000), c-Jun-dependent inhibition of cutaneous procollagen transcription following ultraviolet irradiation is reversed by alltrans retinoic acid. *J. Clin. Invest.* 106: 663-670

**Fisher et al.** (2002), Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch. Dermatol.* 138: 1462-1470

**Fligiel et al.** (2003), collagen degradation in aged/photodamaged skin in vivo and after exposure to matrix metalloproteinase-1 in vitro. *J. Invest. Dermatol.* 120: 842-848

**Flores and Halder** (2011), Stem cell proliferation in the skin: alpha-catenin takes over the hippo pathway. *Sci. Signal.* 4: 34

**Flores et al.** (2005), Effects of telomerase and telomere length on epidermal stem cell behavior. *Science* 309: 1253-1256.

**Flores et al.** (2008), The longest telomeres: a general signature of adult stem cell compartments. *Genes Dev.* 22: 654-667

**Francis and Robert** (1984), Elastin and elastic fibres in normal and pathologic skin. *Int. J. Dermatol.* 23: 166-179

**Frye et al.** (2007), Epidermal stem cells are defined by global histone modifications that are altered by Myc-induced differentiation. *PLoS ONE* 2: e763

**Fuchs** (2008), Skin stem cells: rising to the surface. *The Journal of Cell Biology*, 180(2): 273-284

**Fuchs** (2009), Finding One's Niche in the Skin. *Cell Stem Cell*. 4(6): 499–502

**Fuchs and Green** (1980), Changes in keratin gene expression during terminal differentiation of the keratinocyte. *Cell* 19: 1033-1042

**Fuchs et al.** (2004), Socializing with the Neighbors: Stem Cells and Their Niche. *Cell* 116: 769-778

**Fuchs and Horsley** (2008 $\alpha$ ), More than one way to skin. *Genes Dev.* 22: 976-985

**Fuchs and Nowak** (2008 $\beta$ ), Building Epithelial Tissues from Skin Stem Cells. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 73: 333-350

**Funk et al.** (2000), Telomerase expression restores dermal integrity to in vitro-aged fibroblasts in a reconstituted skin model. *Exp. Cell Res.* 258: 270-278

**Gelo-Pujic et al.** (2008), Synthesis of new antioxidant conjugates and their in vitro hydrolysis with Stratum corneum enzymes. *Int. J. Cosmet. Sci.* 30: 195-204

**George et al.** (2011), Mitochondrial peptidase IMMP2L mutation causes early onset of age-associated disorders and impairs adult stem cell self-renewal. *Aging Cell* 10: 584-594.

**Ghazizadeh and Taichman** (2001), Multiple classes of stem cells in cutaneous epithelium: A lineage analysis of adult mouse skin. *EMBO J.* 20: 1215-1222

**Giangreco et al.** (2010), Human skin aging is associated with reduced expression of the stem cell markers beta1 integrin and MCSP. *J. Investig. Dermatol.* 130: 604-608

**Giannakou and Partridge** (2004), The interaction between FOXO and SIRT1: tipping the balance towards survival. *Trends Cell Biol.* 14: 408-412

**Giardina et al.** (2010), Efficacy study in vitro: assessment of the properties of resveratrol and resveratrol + N-acetyl-cysteine on proliferation and inhibition of collagen activity. *Minerva Ginecol.* 62: 195-201

**Gilchrest** (1982), Age associated changes in skin. *J. Am. Geriatr. Soc.* 30:139-142

**Gilchrest** (1995), Biochemical and molecular changes in photodamaged skin. Photodamage. Cambridge: Blackwell science 168-184

**Gilchrest** (1996), A review of skin ageing and its medical therapy. Br. J. Dermatol. 135: 867-975

**Gilchrest and Krutmann** (2006), Skin Aging, Springer

**Gilchrest and Yaar** (1992) Ageing and photoageing of the skin: observations at the cellular and molecular level. Br. J. Dermatol. 127: 25-30

**Gonos** (2000), Genetics of aging: lessons from centenarians. Exp. Gerontol. 35: 15-21

**Gonzalez-Suarez et al.** (2005), Antagonistic effects of telomerase on cancer and aging in K5-mTert transgenic mice. Oncogene 24: 2256-2270

**Gonzalez-Suarez et al.** (2001), Increased epidermal tumors and increased skin wound healing in transgenic mice overexpressing the catalytic subunit of telomerase, mTERT, in basal keratinocytes. EMBO J. 20: 2619-2630

**Gonzalez-Uloa and Flores** (1965), Senility of the face-basic study to understand causes and effects. Plastic Reconstructive Surgery 36: 239-246

**Gopalakrishnan et al.** (2013), Medaka fish exhibits longevity gender gap, a natural drop in estrogen and telomere shortening during aging: a unique model for studying sex-dependent longevity. Front. Zool. 10: 78

**Gordon et al.** (2014), Progeria: a paradigm for translational medicine. Cell 156: 400-407

**Gourronc et al.** (2010), Proliferative defects in dyskeratosis congenita skin keratinocytes are corrected by expression of the telomerase reverse transcriptase, TERT, or by activation of endogenous telomerase through expression of papillomavirus E6/E7 or the telomerase RNA component, TERC. Exp. Dermatol. 19: 279-288

**Grujil** (2000), Photocarcinogenesis: UVA vs UVB. Methods Enzymol. 319: 359-366

**Guasch et al.** (2007), Loss of TGF- $\beta$  signaling destabilizes homeostasis and promotes squamous cell carcinomas in stratified epithelium. Cancer Cell 12: 313-327

**Hayflick** (1965), The Limited in vitro lifetime of Human Diploid Cell Strains. Exp. Cell Res. 37: 614-636

**Hayflick and Moorhead** (1961), The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp. Cell Res.* 25: 585-621

**Halachmi, Yaar, Gilhrest** (2005), Advances in skin aging/photoaging: Theoretic and practical implications (Part I), *Ann. Dermatol. Venereol.* 132: 362

**Herbig et al.** (2004), Telomere shortening triggers senescence of human cells through a pathway involving ATM, p53, and p21(CIP1), but not p16(INK4a). *Mol. Cell* 14: 501-513

**Holliday R.** (1995), *Understanding ageing*, Cambridge University Press, Cambridge

**Horsley et al.** (2006), Blimp1 defines a progenitor population that governs cellular input to the sebaceous gland. *Cell.* 126(3): 597-609

**Houben et al.** (2008), Telomere length assessment: biomarker of chronic oxidative stress? *Free Rad. Biol. Med.* 44: 235-246

**Hume et al.** (2001), Rab27a Regulates the Peripheral Distribution of Melanosomes in Melanocytes. *The Journal of Cell Biology* 152(4): 795-808

**Im et al.** (2002), Donor specific response of estrogen and progesterone on cultured human melanocytes. *J. Korean Med. Sci.* 17: 58-64

**Indra et al.** (2007), Malignant transformation of DMBA/TPA-induced papillomas and nevi in the skin of mice selectively lacking retinoidX-receptor in epidermal keratinocytes. *J. Invest. Dermatol.* 127: 1250-1260

**Ingram et al.** (2006), Calorie restriction mimetics: an emerging research field. *Aging Cell.* 5: 97-108.

**Itoh et al.** (2011), Generation of keratinocytes from normal and recessive dystrophic epidermolysis bullosa-induced pluripotent stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108: 8797-8802

**Itoh et al.** (2013), Generation of 3D skin equivalents fully reconstituted from human induced pluripotent stem cells (iPSCs). *PloS One* 8: e77673

**James et al.** (2011), *Andrews Νοσήματα του Δέρματος, Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης*

**Jazwinski** (2001), New clues to old yeast. *Mech. Ageing Dev.* 122: 865-882

**Jensen et al.** (2008), A distinct population of clonogenic and multipotent murine follicular keratinocytes residing in the upper isthmus. *J. Cell Sci.* 121: 609-617

**Jensen and Watt** (2006), Single-cell expression profiling of human epidermal stem and transit-amplifying cells: Lrig1 is a regulator of stem cell quiescence. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103: 11958-11963

**Jones and Wagers** (2008), No place like home: anatomy and function of the stem cell niche. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 9: 11-21

**Jones and Simons** (2008), Epidermal homeostasis: do committed progenitors work while stem cells sleep? *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 9: 82-88

**Junqueira L.C., Carneiro J., O' Kelley R.** (1989), Βασική Ιστολογία, 6<sup>η</sup> έκδοση, Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, Chapter 18: 481-500

**Kahle et al.** (1985), Ανατομική του Ανθρώπου, Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας

**Kajjiya et al.** (2007), Reduction of lymphatic vessels in photodamaged human skin. *J. Dermatol. Sci.* 47: 241-243

**Kanda and Watanabe** (2004), 17 beta-estradiol stimulates the growth of human keratinocytes by inducing cyclin D2 expression. *J. Investig. Dermatol.* 123: 319-328

**Kang et al.** (2001), Photoaging: pathogenesis, prevention and treatment. *Clin. Geriatr. Med.* 17: 643-659

**Kang et al.** (2008), Extracellular matrix secreted by senescent fibroblasts induced by UVB promotes cell proliferation in HaCaT cells through PI3K/AKT and ERK signaling pathways. *Int. J. Mol. Med.* 21: 777-784

**Kanitakis J.** (1998), Immunohistochemistry of normal human skin. *European Journal of Dermatology*, 8(8): 539-547, Reviews

**Kanitakis J.** (2002), Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *European Journal of Dermatology* 12 (4): 390-401, Articles FMC

**Kierszenbaum L.A.** (2007), Histology and cell biology: an introduction to pathology. Library of Congress, Second edition, Chapter 11, 327-350

**Kim et al.** (2008a), Evidence supporting antioxidant action of adipose-derived stem cells: protection of human dermal fibroblasts from oxidative stress. *J. Dermatol. Sci.* 49: 133-142

**Kim et al.** (2008b), Whitening effect of adipose-derived stem cells: a critical role of TGF-beta 1. *Biol. Pharm. Bull.* 31: 606-610

**Kim et al.** (2009), Insulin-like growth factor-binding protein contributes to the proliferation of less proliferative cells in forming skin equivalents. *Tissue Eng. Part A* 15: 1075-1080

**Kim et al.** (2013), The effect of estrogen compounds on human embryoid bodies. *Reprod. Sci.* 20: 661-669

**Kipling** (2001), Telomeres, replicative senescence and human ageing. *Maturitas* 38: 25-37

**Kippenberger et al.** (1998), Quantification of tyrosinase, TRP-1, and Trp-2 transcripts in human melanocytes by reverse transcriptase-competitive multiplex PCR—regulation by steroid hormones. *J. Investig. Dermatol.* 110: 364-367

**Kiyono et al.** (1998), Both Rb/p16INK4a inactivation and telomerase activity are required to immortalize human epithelial cells. *Nature* 396: 84-88

**Kligman** (1989), Photoaging: manifestations, prevention and treatment. *Clin. Geriatr. Med* 5: 235-251

**Kligman AM, Graham JA** (1989), The psychology of appearance in the elderly. *Clinical Geriatric Medicine* 5: 213-222

**Klimczak and Kozłowska** (2016), Mesenchymal Stromal Cells and Tissue-Specific Progenitor Cells: Their Role in Tissue Homeostasis. *Stem Cells International* 2016: 1-11

**Koch et al** (2001), In human keratinocytes the Common Deletion reflects donor variabilities rather than chronologic aging and can be induced by ultraviolet A irradiation. *J. Invest. Dermatol.* 117: 892-897

**Kohen** (1999), Skin antioxidants: their role in aging and in oxidative stress—new approaches for their evaluation. *Biomed. Pharmacother.* 53: 181-192

**Kokot et al.** (2009), Alpha-melanocyte-stimulating hormone counteracts the suppressive effect of UVB on Nrf2 and Nrf-dependent gene expression in human skin. *Endocrinology* 150(7): 3197-3206

**Kondoh et al.** (2007), Inhibition of estrogen receptor beta-mediated human telomerase reverse transcriptase gene transcription via the suppression of mitogen-activated protein kinase signaling plays an important role in 15-deoxy-delta(12,14)-prostaglandin J(2)-induced apoptosis in cancer cells. *Exp. Cell Res.* 313: 3486-3496

**Koster and Roop** (2007), Mechanisms regulating epithelial stratification. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 23: 93-113



**Kumano et al.** (2008), Both Notch1 and Notch2 contribute to the regulation of melanocyte homeostasis. *Pigment Cell Melanoma Res.* 21: 70-78

**Kumar et al.** (2009), *Pathologic Basis of Disease, Professional Edition*, 8<sup>th</sup> ed Chapter 3 – Tissue Renewal, Regeneration, and Repair

**Kung et al.** (2008), In vivo perfusion of human skin substitutes with microvessels formed by adult circulating endothelial progenitor cells. *Dermatol. Surg.: Off. Publ. Am. Soc. Dermatol. Surg.* 34: 137-146

**Kwon et al.** (2008), Photoaging-associated changes in epidermal proliferative cell fractions in vivo. *Arch. Dermatol. Res.* 300: 47-52

**Kyo et al.** (1999), Estrogen activates telomerase. *Cancer Res.* 59: 5917–5921

**Lavker** (1995), *Cutaneous aging: chronologic versus photoaging. Photodamage.* Cambridge: Blackwell Science 123-135

**Lavker and Kingman** (1988), chronic heliodermatitis: a morphologic evaluation of chronic actinic damage with emphasis on the role of mast cells. *J. Invest. Dermatol.* 90: 325-330.

**Lavu et al.** (2008), Sirtuins—novel therapeutic targets to treat age-associated diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 7: 841-853.

**Lechler and Fuchs** (2005), Asymmetric cell divisions promote stratification and differentiation of mammalian skin. *Nature* 437: 275-280

**Lee et al.** (2010), CTGF directs fibroblast differentiation from human mesenchymal stem/stromal cells and defines connective tissue healing in a rodent injury model. *J. Clin. Invest.* 120: 3340-3349

**Lewis et al.** (2004), Acquired disorders of elastic tissue: part I. Increased elastic tissue and solar elastotic syndromes. *J. Am. Acad. Dermatol.* 51: 1-21

**Liu et al.** (2011) The PI3K-Akt pathway inhibits senescence and promotes self-renewal of human skin-derived precursors in vitro. *Aging Cell* 10: 661–674

**Liu et al.** (2016), The MC1R Gene and Youthful Looks. *Current Biology* 26: 1213-1220

**López-Otín et al.** (2013), The hallmarks of aging. *Cell* 153: 1194-1217

**López-Otín et al.** (2016), Metabolic Control Longevity. *Cell* 166: 802-821

**López-Otín et al.** (2016), Hallmarks of progeroid syndromes: lessons from mice and reprogrammed cells. *Dis. Model. Mech.* 9(7): 719-735

**Lujambio et al.** (2016), To clear, or not to clear (senescent cells)? That is the question. *Inside the cell* 1: 87-95

**Mack et al.** (2006), A cerebroprotective dose of intravenous citrate/sorbitol-stabilized dehydroascorbic acid is correlated with increased cerebral ascorbic acid and inhibited lipid peroxidation after murine reperfused stroke. *Neurosurgery* 59: 383–388, discussion 383-388.

**Mantel and Broxmeyer** (2008), Sirtuin 1, stem cells, aging, and stem cell aging. *Curr. Opin. Hematol.* 15: 326-331

**Marconett et al.** (2011), Indole-3-carbinol downregulation of telomerase gene expression requires the inhibition of estrogen receptor- $\alpha$  and Sp1 transcription factor interactions within the hTERT promoter and mediates the G1 cell cycle arrest of human breast cancer cells. *Carcinogenesis* 32: 1315-1323

**Martin et al.** (1996), Genetic analysis of ageing: role of oxidative damage and environmental stresses. *Nat. Genet.* 13: 25-34

**Martin and Oshima** (2000), Lessons from human progeroid syndromes. *Nature* 408: 263-266

**Massague and Gomis** (2006), The logic of TGF $\beta$  signaling. *FEBS Lett.* 580: 2811-2820

**Mason et al.** (2005), Dyskeratosis congenita—a disease of dysfunctional telomere maintenance. *Curr. Mol. Med.* 5: 159-170

**Matsubara and Matsubara** (2012), Estrogen and progesterone play pivotal roles in endothelial progenitor cell proliferation. *Reprod. Biol. Endocrinol.: RB&E* 10: 2

**Mattiussi et al.** (2012), Human telomerase represses ROS-dependent cellular responses to tumor necrosis factor- $\alpha$  without affecting NF- $\kappa$ B activation. *Cell Signal.* 24: 708-717

**McDaniel** (2005), Idebenone: a new antioxidant—Part I. Relative assessment of oxidative stress protection capacity compared to commonly known antioxidants. *J. Cosmet. Dermatol.* 4: 10-17

**McGrath J.A., Eady R.A.J., Pope F.M.** (2004), *Rook's Textbook of Dermatology*, 7th edition, Chapter 3

**Mills et al.** (1999), p63 is a p53 homologue required for limb and epidermal morphogenesis. *Nature* 398: 708-713

**Mimeault and Batra** (2009), Recent insights into molecular mechanisms involved in aging and the malignant transformation of adult stem/progenitor cells and their therapeutic implications. *Ageing Res. Rev.* 8(2): 1-40

**Mimeault and Batra** (2010), Recent advances on skin-resident stem/progenitor cell functions in skin regeneration, aging and cancers and novel anti-aging and cancer therapies. *J. Cell. Mol. Med.* 14(1-2): 116-134

**Mogford et al.** (2006), Adenoviral human telomerase reverse transcriptase dramatically improves ischemic wound healing without detrimental immune response in an aged rabbit model. *Hum. Gene Ther.* 17: 651-660

**Morasso and Tomic-Canic** (2005), Epidermal stem cells: the cradle of epidermal determination, differentiation and wound healing. *Biol. Cell.* 97(3): 173-183

**Moreau et al.** (2007), Enhancing cell longevity for cosmetic application: a complementary approach. *J. Drugs Dermatol.* 6: 14-9

**Morley** (2001), Androgens and aging. *Maturitas* 38: 61-71, discussion 71-63

**Munoz et al.** (2005), XPF nuclease-dependent telomere loss and increased DNA damage in mice overexpressing TRF2 result in premature aging and cancer. *Nat. Genet.* 37: 1063-1071

**Nakamura et al.** (2002), Comparative analysis of telomere lengths and erosion with age in human epidermis and lingual epithelium. *J. Investig. Dermatol.* 119: 1014-1019

**Neufer et al.** (2015), Understanding the cellular and molecular mechanisms of physical activity-induced health benefits. *Cell Metab.* 22: 4-11

**Neugebauer et al.** (2008), Inhibitors of NAD<sub>2</sub> dependent histone deacetylases (sirtuins). *Curr. Pharm. Des.* 14: 562-73

**Nijhof et al.** (2006), The cell-surface marker MTS24 identifies a novel population of follicular keratinocytes with characteristics of progenitor cells. *Development* 133(15): 3027-37

**Nowak et al.** (2008), Hair follicle stem cells are specified and function in early skin morphogenesis. *Cell Stem Cell* 3: 33-43

**Νικολαΐδου Η.** (2006), Εισαγωγή στη Δερματολογία, Εκδόσεις Παπαζήση

**Obayashi et al.** (2013), Transcriptome analysis of estrogen regulating factors in hair cycle. *J. Investig. Dermatol.* 133: 80

**Ohta et al.** (2011), Generation of Human Melanocytes from Induced Pluripotent Stem Cells 6(1): 1-10

**Oikawa and Kawanishi** (1999), Site-specific DNA damage at GGG sequence by oxidative stress may accelerate telomere shortening. FEBS Lett. 453: 365-368

**Opresko** (2008), Telomere ResQue and preservation-roles for the Werner syndrome protein and other ReqQ helicases. Mech. Ageing Dev. 129(1-2): 79-90

**Oren and Bartek** (2007), The sunny side of p53, Cell 128(5): 826-828

**Owens and Watt** (2003), Contribution of stem cells and differentiated cells to epidermal tumours. Nat. Rev. Cancer 3: 444-451

**Park et al.** (2008), Adipose-derived stem cells and their secretory factors as a promising therapy for skin aging. Dermatol. Surg.: Off. Publ. Am. Soc. Dermatol. Surg. 34: 1323-1332

**Pillai et al.** (2005), Ultraviolet radiation and skin aging: roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation, and strategies for prevention of inflammation-induced matrix degradation – a review. Int. J. Cosmet. Sci. 27: 17-34

**Pinnell et al.** (2001), Topical L-ascorbic acid: percutaneous absorption studies. Dermatol. Surg.: Of. Publ. Am. Soc. Dermatol. Surg. 27: 137-142

**Peng et al.** (2015), Stem cells and aberrant signaling of molecular system in skin aging. Ageing Res. Rev. 19: 8-21

**Perryman and Sylvester** (2006), Repair and regeneration: opportunities for carcinogenesis from tissue stem cells. Journal of Cellular and Molecular Medicine 10( 2): 292-308

**Puizina-Ivic et al.** (2010), Modern approach to topical treatment of aging skin. Coll. Antropol. 34: 1145-1153

**Qiu et al.** (2012), Oestrogen-deficiency inducing haematopoiesis dysfunction via reduction in haematopoietic stem cells and haematopoietic growth factors in rats. Int. J. Exp. Pathol. 93: 179-187

**Queen and Tollefsbol** (2010), Polyphenols and aging. Curr. Aging Sci. 3: 34-42

**Raine-Fenning et al.** (2003), Skin aging and menopause: implications for treatment. Am. J. Clin. Dermatol. 4: 371-378

**Ramirez et al.** (1997), Telomerase activity concentrates in the mitotically active segments of human hair follicles. J. Investig. Dermatol. 108: 113-117

**Ramirez et al.** (2001), Putative telomere-independent mechanisms of replicative aging reflect inadequate growth conditions. *Genes Dev.* 15: 398-403

**Rass and Reichrath** (2008), UV damage and DNA repair in malignant melanoma and nonmelanoma skin cancer. *Adv. Exp. Med. Biol.* 624: 162-178

**Reimann et al.** (2008), Late manifestation of dyskeratosis congenita presenting as chronic dermal ulcer in a 37-year-old man. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.: EADV* 22: 897-898

**Roos et al.** (2016), Chronic senolytic treatment alleviates established vasomotor dysfunction in aged or atherosclerotic mice. *Aging Cell* 1-5

**Saldanha et al.** (2016), Epigenetic Regulation of Epidermal Stem Cell Biomarkers and Their Role in Wound Healing. *Int. J. Mol. Sci.* 17(1): 1-18

**Santiago-Walker et al.** (2009), Melanocytes: From Morphology to Application. *Skin Pharmacol. Physiol.* 22: 114-121

**Sardy** (2009), Role of matrix metalloproteinases in skin aging. *Connect. Tissue Res.* 50: 132-138

**Schriner et al.** (2000). Levels of DNA damage are unaltered in mice overexpressing human catalase in nuclei. *Free Radic. Biol. Med.* 28: 664-673

**Schultz and Sinclair** (2016), When stem cells grow old: phenotypes and mechanisms of stem cell aging. *Development* 143: 3-14

**Sellheyer and Krahl** (2009), Skin mesenchymal stem cells: Prospects for clinical Dermatology. *J. Am. Acad. Dermatol.* 63(5): 859-65

**Sen et al.** (2008), Control of differentiation in a self-renewing mammalian tissue by the histone demethylase JMJD3. *Genes Dev.* 22: 1865-1870

**Seneschal J. et al.** (2012), Human Epidermal Langerhans Cells Maintain Immune Homeostasis in Skin by Activating Skin Resident Regulatory T Cells, *Cell Press* 36: 5: 873-884

**Senoo et al.** (2007), p63 is essential for the proliferative potential of stem cells in stratified epithelia. *Cell* 129: 523-536

**Serrano and Blasco** (2001), Putting the stress on senescence. *Curr. Opin. Cell Biol.* 13: 748-753

**Seve et al.** (2005), Resveratrol enhances UVA-induced DNA damage in HaCaT human keratinocytes. *Med. Chem.* 1: 629-633

**Shah and Maibach** (2001), Estrogen and skin. An overview. *Am. J. Clin. Dermatol.* 2: 143-150

**Shay and Wright** (2000), Hayflick, his limit, and cellular ageing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 1: 72-76

**Shay and Wright** (2005a), Use of telomerase to create bioengineered tissues. *Ann. NY Acad. Sci.* 1057: 479-491.

**Shay and Wright** (2007), Hallmarks of telomeres in ageing research. *J. Pathol.* 211: 114-123.

**Shreedhar et al.** (1998), A cytokine cascade including prostaglandin E2, IL-4, and IL-10 is responsible for UV-induced systemic immune suppression. *J. Immunol.* 160: 3783-3789

**Sisoula** (2011), Ph. D. Thesis: Molecular mechanisms of cellular senescence: Proteasomal regulation of transcription factor p53. National and Kapodistrian University of Athens, Faculty of Biology, Department of Biochemistry and Molecular Biology

**Smith and Pereira-Smith** (1996), Replicative senescence: implications for in vivo aging and tumor suppression. *Science* 273: 63-67

**Song et al.** (2011), Determination of adiposederived stem cell application on photo-aged fibroblasts, based on paracrine function. *Cytherapy* 13: 378-384

**Stout and Blasco** (2009), Genetic dissection of the mechanisms underlying telomere-associated diseases: impact of the TRF2 telomeric protein on mouse epidermal stem cells. *Dis. Models Mech.* 2: 139-156

**Takahashi and Yamanaka** (2006), Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126: 663-676

**Taylor et al.** (1996), Detection of telomerase activity in malignant and nonmalignant skin conditions. *J. Investig. Dermatol.* 106: 759-765

**Thiele** (2001), Oxidative targets in the stratum corneum. A new basis for antioxidative strategies. *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.* 14(1): 87-91

**Thornton et al.** (2003), The distribution of estrogen receptor beta is distinct to that of estrogen receptor alpha and the androgen receptor in human skin and the pilosebaceous unit. *J. Invest. Derm. Symp. Proc.* 8: 100-103



**Toma et al.** (2001), Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. *Nat. Cell. Biol.* 3: 778-784

**Tomas-Loba et al.** (2008), Telomerase reverse transcriptase delays aging in cancer-resistant mice. *Cell* 135: 609-622

**Toyoshima** (2012), Fully functional hair follicle regeneration through the rearrangement of stem cells and their niches. *Nat. Commun.* 3: 784

**Trapp and Jung** (2006), The role of NAD<sup>+</sup> dependent histone deacetylases (sirtuins) in ageing. *Curr. Drug Targets.* 7: 1553-1560

**Tumbar et al.** (2004), Defining the epithelial stem cell niche in skin. *Science* 303: 359-363

**Uitto and Bernstein** (1998), Molecular mechanisms of cutaneous aging: Connective tissue alterations in the dermis. *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.* 3: 41-44

**Uitto** (2011), Regenerative medicine for skin diseases: iPS cells to the rescue. *J. Invest. Dermatol.* 131: 812-814

**Ullrich** (2005), Mechanisms underlying UV-induced immune suppression. *Mutat. Res.* 571: 185-205

**Ullrich et al.** (2002), Mechanisms underlying UV induced immune suppression: implications for sunscreen design. *Exp. Dermatol.* 11(1): 13-16

**Unternaehrer and Daley** (2011), Induced pluripotent stem cells for modelling human diseases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B. Biol. Sci.* 366: 2274-2285

**Urano et al.** (1995), Female sex hormone stimulates cultured human keratinocyte proliferation and its RNA- and protein-synthetic activities. *J. Dermatol. Sci.* 9: 176-184

**Varani et al.** (2002), Inhibition of type I procollagen production in photodamage: correlation between presence of high molecular weight collagen fragments and reduced procollagen synthesis. *J. Invest. Dermatol.* 119: 122-129

**Velasco et al.** (2008), Broad spectrum bioactive sunscreens. *Int. J. Pharm.* 363: 50-57

**Veraitch et al.** (2013), Human induced pluripotent stem cell derived ectodermal precursor cells contribute to hair follicle morphogenesis in vivo. *J. Invest. Dermatol.* 133: 1479-1488

**Verdier-Sevain et al.** (2004), Estradiol induces proliferation of keratinocytes via receptor-mediated mechanisms. *FASEB J.* 18: 1252-+

**Weber et al.** (1999), Vitamin C, uric acid, and glutathione gradients in murine stratum corneum and their susceptibility to ozone exposure. *J. Investig. Dermatol.* 113: 1128-1132

**Weindruch** (2009), Caloric Restriction and Aging: Studies in Mice and Monkeys. *Toxicologic Pathology* 37(1): 47-51

**Westin et al.** (2007), Telomere restoration and extension of proliferative lifespan in dyskeratosis congenita fibroblasts. *Aging Cell.* 6: 383-394

**Wheater et al.** (2002), *Λειτουργική Ιστολογία, Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης*

**Wlaschek et al.** (2001), Solar UV irradiation and dermal photoaging. *J. Photochem. Photobiol. B* 63: 41-51

**Wolff et al.** (2012), *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine* 8<sup>th</sup> ed., Mc Graw Hill

**Wong et al.** (2003), Telomere dysfunction and Atm deficiency compromises organ homeostasis and accelerates aging. *Nature* 421: 643-648

**Wright and Shay** (1992), The two-stage mechanism controlling cellular senescence and immortalization. *Exp. Gerontol.* 27: 383-389

**Wu et al.** (2007), Bone marrow-derived stem cells in wound healing: a review. *Wound Repair Regen.: Off. Publ. Wound Heal. Soc. Eur. Tissue Repair Soc.* 15 (1): 18-26

**Xia et al.** (1995), Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinases on apoptosis. *Science* 270: 1326-1331

**Xue and Li** (2011), Upregulation of collagen type 1 in aged murine dermis after transplantation of dermal multipotent cells. *Clin. Exp. Dermatol.* 36: 775-781

**Yaar and Gilhrest** (2008), *Skin Aging, Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine* 7<sup>th</sup> ed., Mc Graw Hill

**Yang et al.** (1999), p63 is essential for regenerative proliferation in limb, craniofacial and epithelial development. *Nature* 398: 714-718

**Yang et al.** (2014), Generation of folliculogenic human epithelial stem cells from induced pluripotent stem cells. *Nat. Commun.* 5: 3071

**Yasumoto et al.** (1996), Telomerase activity in normal human epithelial cells. *Oncogene* 13: 433-439.

**Yi et al.** (2008), A skin microRNA promotes differentiation by repressing 'stemness'. *Nature* 452: 225-229

**Yoshida et al.** (2001), Review: melanocyte migration and survival controlled by SCF/c-kit expression. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc. Soc. Investig. Dermatol. Inc. [and] Eur. Soc. Dermatol. Res.* 6: 1-5

**Yoshikawa et al.** (2008), Wound therapy by marrow mesenchymal cell transplantation. *Plast. Reconstr. Surg.* 121: 860-877

**Zhang and Fu** (2008). Therapeutic potential of stem cells in skin repair and regeneration. *Chin. J. Traumatol.* 11: 209-221

**Zhang et al.** (2012), Wnt/beta-catenin signaling is critical for dedifferentiation of aged epidermal cells in vivo and in vitro. *Aging Cell* 11: 14-23

**Zhong et al.** (2011), A novel promising therapy for skin aging: dermal multipotent stem cells against photoaged skin by activation of TGF-beta/Smad and p38 MAPK signaling pathway. *Med. Hypotheses* 76: 343-346

**Zouboulis** (2003), Intrinsic skin aging. A critical appraisal of the role of hormones. *Der Hautarzt; Zeitschrift Dermatol. Venerol. Verwandte Gebiete* 54: 825-832.

**Zouboulis and Boschnakow** (2001), Chronological ageing and photoageing of the human sebaceous gland. *Clin. Exp. Dermatol.* 25: 600-607.