

УДК 612.799.1-02:613:546.3

ЦИНК-ЗАВИСИМЫЕ ФАКТОРЫ В РЕГУЛЯЦИИ ЦИКЛА ФОЛЛИКУЛА ВОЛОСА

Николаева Т.В., Сетко Н.П., Воронина Л.Г.

*ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия» Министерства
здравоохранения РФ, Оренбург, e-mail: orenderma@yandex.ru*

В статье рассматривается участие цинк-зависимых факторов в регуляции цикла фолликула волоса. Показано, что цинк-содержащими факторами, участвующими в регуляции анагена, являются базонуклин, матриксные металлопротеазы, металлотнионин. Апоптоз клеток волосяного фолликула регулируется семействами Bcl 2 и IAP, белки которых (Бах и сурвивин), являются цинк-зависимыми. Высказано предположение о том, что дисбаланс микроэлементов, приводящий к изменению концентрации цинка в организме, может быть фактором патогенеза гнездной алопеции. Необходимо экспериментальное подтверждение влияния микроэлементного дисбаланса на структурное и функциональное состояние волосяного фолликула.

Ключевые слова: цикл фолликула волоса, цинк-зависимые факторы, гнездная алопеция

ZINC-DEPENDENT FACTORS IN REGULATION OF HAIR FOLLICLE CYCLE

Nikolaeva T.V., Setko N.P., Voronina L.G.

*The Orenburg State Medical Academy» of Ministry of Health of the RF, Orenburg,
e-mail: orenderma@yandex.ru*

The article deals with the participation of zinc-dependent factors in the regulation of hair follicle cycle. Shown that zinc-containing factors involved in the regulation of anagen are bazonuklin, matrix metalloproteinases, metallothionein. Apoptosis of hair follicle cells is regulated by families of Bcl 2 and IAP, which proteins (Bax and survivin) are zinc-dependent. It is hypothesized that the minerals imbalance, leading to changes in the concentration of zinc in the body may be a factor in the pathogenesis of alopecia areata. Need experimental confirmation of the influence of trace-element imbalances in the structural and functional condition of the hair follicle.

Keywords: hair follicle cycle, zinc-dependent factors, alopecia areata

Гнездная алопеция – заболевание мультифакториальной природы [16], при котором органом-мишенью для аутоиммунной атаки является волосяной фолликул [25]. Возникновение гнездной алопеции опосредовано сложным взаимодействием генетических и внешнесредовых факторов [2, 3]. В научной литературе обсуждается роль многочисленных факторов внешней среды [18, 39, 40], которые, вероятно, могут увеличить или уменьшить восприимчивость к этому дерматозу, влияют на его клиническую форму, тяжесть заболевания, течение, ответ на лечение, путем модификации физического и биохимического статуса иммунной системы и/или фолликула волоса [36]. Данные эпидемиологических исследований свидетельствуют о том, что частота аутоиммунных заболеваний в различных регионах мира меняется в зависимости от моделей потребления пищи и содержания в ней пробиотиков, витаминов Д, А, селена, цинка, омега-3 жирных кислот и флавонов [12], в некоторых работах рассматривается возможное влияние нарушения обмена микроэлементов в качестве триггерного фактора, способствующего возникновению гнездной алопеции [43, 17].

Цель работы. Целью представленной работы явилось определение роли цинка как структурного элемента регуляторных факторов, определяющих циклические изменения волосяного фолликула.

Материалы и методы исследования

Анализ отечественных и зарубежных литературных источников.

Результаты исследования и их обсуждение

Гнездная алопеция характеризуется нарушением цикла фолликула волоса, приводящим к рецидивирующему выпадению волос [21]. Нормальный цикл развития волоса включает повторяющиеся последовательные фазы активного воспроизводства стержня волоса (анаген), апоптоз-управляемой регрессии (катаген), фазы покоя (телоген) и выпадения (экзоген) [49]. Циклические изменения волосяного фолликула определяются активацией транскрипционных факторов, ряда сигнальных путей, факторов роста, ферментных каскадов [22, 48, 9]. Учитывая, что почти 50% транскрипционных факторов в геноме человека, используют цинк-содержащие домены («цинковые

пальцы») для распознавания своих мишеней [19, 30], и каталитические, структурные и регуляторные функции цинка в организме [13, 37], представлялось интересным оценить участие цинк-зависимых факторов в регуляции цикла фолликула волоса.

Способность волосяных фолликулов постоянно обновляться обеспечивается присутствием мультипотентных стволовых клеток [29]. В покоящейся телогеновой луковице стволовые клетки находятся в эпителии вторичного зародыша волоса, к которому тесно примыкает дермальный сосочек [46]. Активация транскрипции – самое раннее из наблюдаемых изменений, происходящих в этой структуре [49]. Важным механизмом регуляции транскрипции являются транскрипционные факторы. Они участвуют в таких фундаментальных биологических процессах, как клеточная пролиферация, дифференцировка и клеточный ответ на внешние стимулы [24]. Крупнейшее семейство транскрипционных факторов содержит ДНК-связывающий мотив, известный как «цинковый палец» [50]. Клеточно-специфичным цинк-пальцевым белком для базальных кератиноцитов и зародышевых клеток является базонуклин. В кератиноцитах базонуклин ведет себя как маркер стволовых клеток и, как полагают, транскрипционный фактор, который поддерживает пролиферацию и предотвращает терминальную дифференцировку, выполняющая важную функцию как регуляторный белок транскрипции ДНК [51]. Ряд структур анагенового фолликула (базальный слой наружного корневого влагалища, зона выпуклости, перипапиллярные клетки луковицы) экспрессируют базонуклин, но по мере приближения к стадии катагена, его экспрессия, как и клеточная пролиферация, останавливаются [53]. Во время фазы анагена, активный рост фолликула включает пролиферацию клеток фолликулярного эпителия с последующим вращением в удлиняющийся дермальный сосочек, дифференцировку эпителия в основании фолликула и формирование клеток матрикса, генерирующих новый стержень волоса [45]. В этот период в фолликулярном эпителии и мезенхиме дермального сосочка, отделенных друг от друга базальной мембраной, активировано большое число сигнальных путей и факторов (BMP, FGF, HGF, IGF, PDGF, SCF, Shh, Wnt), координированная активность которых необходима для формирования волоса [9, 1]. Для обмена сигнальными молекулами и факторами между фолликулярным эпителием и дермальным сосочком, а также для внедрения растущего фолликула волоса в дерму во время

фазы анагена необходимо ремоделирование базальной мембраны и управляемая деградация внеклеточных компонентов соединительной ткани дермы [28]. Эти процессы роста и морфогенеза волосяного фолликула обеспечивают матриксные металлопротеазы [54]. Это широкая группа цинк- и кальций-зависимых протеаз, ответственных за расщепление и восстановление компонентов соединительной ткани, входящих в состав внеклеточного матрикса. Эти ферменты играют важнейшую роль в организме и присутствуют в нескольких формах, которые имеют различную локализацию, субстратную специфичность и регуляцию. Обычно металлопротеазы выделяются из клеток в неактивной форме, что предотвращает расщепление эссенциальных компонентов клетки. Эти энзимы имеют 3 домена: N-терминальный пропептид, каталитический домен и C-терминальный домен [34]. Именно каталитический домен содержит цинк-связывающий мотив, соединенный с метионином, который образует уникальную структуру, известную как «метиониновая петля». Каталитический домен состоит из 2 ионов цинка и двух или трех ионов кальция. Первый ион Zn^{2+} присутствует в активном сайте и непосредственно участвует в каталитическом процессе. Второй ион Zn^{2+} выполняет структурную функцию [15], ионы Ca^{2+} стабилизируют доменную структуру в молекуле металлопротеаз [7].

Клетки анагенового фолликула синтезируют и секретируют различные металлопротеазы, включая интерстициальную коллагеназу, стромелизин-1, желатиназу, коллагеназу и матрилизин. [26, 32], имеющие различную субстратную специфичность.

Деградация внеклеточного матрикса и ремоделирование базальной мембраны строго контролируются балансом между матриксными металлопротеазами и их тканевыми ингибиторами [49], которые циклически экспрессируются в волосяных фолликулах человека [33]. Матриксные металлопротеазы связываются с тканевыми ингибиторами в соотношении 1 : 1, блокируя расщепление субстратов [42].

Помимо участия в деградации компонентов внеклеточного матрикса, матриксные металлопротеазы выступают регуляторами биологически важных молекул, таких как металлоионы [54]. Это низкомолекулярные (6 – 7 кДа) неферментные металл-связывающие белки, представленные четырьмя изоформами. Молекулы этих белков отличаются высоким содержанием (30%) цистеина, который образует тиоляты металлов посредством сульфгидрильных

групп. Одна молекула металлотионеина может связать 7 двухвалентных и 12 одновалентных ионов металлов, это связывание требуется для формирования трехмерной конформации металлотионеина [52], который способен связывать такие металлы, как Zn, Cu, Cd, Hg, Pb, Ni и Co [27, 52]. При этом известно, что связывание ионов цинка и кадмия приводят к идентичной конформации последнего [44]. Металлотионеины выполняют в организме разнообразные функции: регуляцию гомеостаза ионов металлов, удаление свободных радикалов, оказывая противовоспалительное и антиапоптотическое действие. Они участвуют в регуляции транскрипционных факторов, митохондриальном дыхании, ходе клеточного цикла и клеточной дифференцировки [44]. Антиапоптотические эффекты металлотионеины I, II оказывают, ингибируя каспазы и протеин p53, увеличивает *de novo* синтез и экспрессию уровней апоптоз-ингибирующих генов (например, bcl-2) и ряда факторов роста (подобных FGF, TGF β , VEGF). Действуя в качестве буфера ионов эссенциальных металлов Zn и Cu, металлотионеины I, II могут управлять Zn- и Cu-зависимыми белками, ферментами и транскрипционными факторами в клетке [6]. Металлотионеин обнаруживается в клетках матрикса волоса и клетках наружного корневого влагалища анагенового фолликула. Предполагается участие этого белка в пролиферации и дифференцировке кератиноцитов [31]. Помимо этого полагают, что металлотионеины влияют на активность матриксных металлопротеаз в естественных условиях, контролируя уровень металлов в организме [54].

В фазу катагена пролиферация и дифференцировка кератиноцитов матрикса волоса значительно снижается, рост фолликула, и производство волоса прекращается, происходит ремоделирование волосяного фолликула, которое гарантирует последующее его возобновление [46, 49]. Катагену способствует ряд факторов (фактор роста фибробластов-5, нейтрофины, трансформирующий фактор роста бета 1 / 2 (TGF- β 1/2), IGF связывающий протеин 3 и тромбоспондин-1), которые синтезируют кератиноциты внешнего корневого влагалища до и во время катагена [8].

Основное событие катагена – апоптоз (49, 11). В его развитии ключевую роль играют белки семейства Bcl2, подразделяющиеся на три группы: активаторы (Bid и Bad – инициируют апоптоз), эффекторы (Bax и Bak – проапоптотические белки) и репрессоры (Bcl2, BclXL и BclW – защищают клетки от апоптотических стимулов) [5]. Многочисленные и специфические вза-

имодействия между тремя группами белков этого семейства координируют апоптотический ответ [14]. Большое значение при этом имеет соотношение Bcl-2/Bax [23].

На самых ранних этапах морфогенеза фолликула волоса Bcl-2 экспрессируется в эпителии и окружающей мезенхиме анагенового фолликула [49]. С развитием катагена возникает прогрессивное снижение экспрессии Bcl-2 в фолликулярном эпителии и увеличение экспрессии Bax в позднем анагене и в течении катагена [35], что приводит к апоптотическому ответу. Важно отметить, что апоптотические клетки в небольшом количестве присутствуют и в анагеновом фолликуле [49]. В этой связи баланс между процессами пролиферации и апоптоза необходим для воспроизводства цикла фолликула.

Согласно литературным данным, цинк увеличивает экспрессию Bax, приводящую к снижению соотношения Bcl-2/Bax [20] и запуску апоптоза. Помимо белков семейства Bcl-2, апоптоз также контролируется сурвивином [10]. Это член семейства белков ингибиторов апоптоза (IAP), участвующий в регуляции клеточной пролиферации, и ингибирующий апоптоз [4]. Сурвивин, экспрессирующийся кератиноцитами матрикса анагенового волоса и внешнего корневого влагалища, исчезает при прогрессировании катагена [11]. Все члены семейства IAP содержат от одного до трех повторяемых мотивов (BIR), каждый из которых связан с ионом цинка. Кроме того, многие белки семейства IAP также цинк-зависимы [38].

Телогеновый фолликул представлен компактным дермальным сосочком, прикрепленным к кератиноцитам вторичного зародыша волоса, содержащего стволовые клетки волосяного фолликула. Баланс стимуляторов и ингибиторов роста в телогеновом фолликуле является определяющим для инициации телоген-анагенового перехода. Активация Shh пути индуцирует переход волосяного фолликула из телогена в анаген [47]. Выпадение волоса (экзоген) – это активный процесс, сопровождающийся активацией протеолитических процессов в телогеновом фолликуле волоса [41].

Заключение

Таким образом, регенерация волосяного фолликула характеризуется изменениями его структуры и клеточной активности. Смена фаз цикла фолликула волоса подчиняется многообразным сигнальным путям и факторам, многие из которых являются цинк-зависимыми. В связи с этим дисбаланс микроэлементов, в частности приводящий к нарушению цинкового гоме-

остаза в организме может быть фактором, приводящим к изменениям волосяного фолликула и участвующим в этиопатогенезе гнездной алопеции в качестве триггерного фактора у генетически предрасположенных лиц. Необходимо экспериментальное подтверждение возможности модификации структурного и функционального состояния волосяного фолликула в условиях микроэлементного дисбаланса.

Список литературы

1. Воротеляк Е.А. Регенеративный потенциал волосяного фолликула. Обзор научных изысканий // Пластическая хирургия и косметология. 2010; 1: 118 – 23.
2. Alexis A.F. Alopecia areata: Autoimmune basis of hair loss // Eur J Dermatol. 2004; 14: 364 – 70.
3. Alkhalifah A, Alsantali A, Wang E, McElwee KJ, Shapiro J. Alopecia areata update: part I. Clinical picture, histopathology, and pathogenesis // J Am Acad Dermatol. 2010; 62 (2): 177 – 88.
4. Altieri D.C. Survivin, versatile modulation of cell division and apoptosis in cancer // Oncogene. 2003; 22: 8581 – 89.
5. Bhat V, McDonald CB, Mikles DC, Deegan BJ, Seldeen KL, Bates ML, Farooq A. Ligand binding and membrane insertion compete with oligomerization of the BclXL apoptotic repressor // J Mol Biol. 2012; 416 (1): 57 – 77.
6. Blindauer C.A. Sadler P.J. How to hide zinc in a small protein // Acc Chem Res. 2005; 38: 62 – 9.
7. Borkakoti N. Structural studies of matrix metalloproteinases // J. Mol. Med. 2000; 78 (5): 261 – 68.
8. Botchkarev V.A., Botchkareva N.V., Peters E.M., Paus R. Epithelial growth control by neurotrophins: leads and lessons from the hair follicle // Prog Brain Res. 2004; 146: 493 – 513.
9. Botchkarev V.A., Kishimoto J. Molecular control of epithelial-mesenchymal interactions during hair follicle cycling // J Invest Dermatol Symp Proc. 2003; 8: 46 – 55.
10. Botchkareva N.V., Kahn M., Ahluwalia G., Shander D. Survivin in the human hair follicle // J Invest Dermatol. 2007; 127: 479 – 82.
11. Botchkareva N.V., Ahluwalia G., Shander D. Apoptosis in the hair follicle // J Invest Dermatol. 2006; 126: 258 – 64.
12. Carmi G., Amital H. The geoepidemiology of autoimmunity: capsules from the 7th International Congress on Autoimmunity, Ljubljana, Slovenia, May 2010 // Isr Med Assoc J. 2011; 13 (2): 121 – 27.
13. Cousins R.J. Zinc. In: Bowman B.A., Russell R.M., eds. Present knowledge in nutrition // Washington, DC: ILSI Press, 2006; 445 – 57.
14. Dewson G., Kluc R.M. Bcl-2 family-regulated apoptosis in health and disease // Cell Health and Cytoskeleton. 2010; 2: 9 – 22.
15. Dhanaraj V., Ye Q.Z., Johnson L.L., Hupe D.J., Ortwein D.F., Dubar J.B. et al. X-ray structure of a hydroxamate inhibitor complex of stromelysin catalytic domain and its comparison with members of the zinc metalloproteinase superfamily // Structure. 1996; 4 (4): 375 – 86.
16. Dudda-Subramanya R., Alexis A.F., Siu K., Sinha A.A. Alopecia areata: genetic complexity underlies clinical heterogeneity // Eur J Dermatol. 2007; 17 (5): 367 – 74.
17. El-Ashmawy A. A., A. M. Khedr. Some Trace Elements' Level in Alopecia Areata. Egyptian Dermatology Online Journal. 2013; 9 (1): 6. Available at: <http://www.edoj.org.eg>.
18. Elenkov I.J., Chrousos G.P. Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity // Ann N Y Acad Sci. 2002; 966: 290 – 303.
19. Emerson R.O., Thomas J.H. Adaptive evolution in zinc finger transcription factors // PLoS Genet. 2009; 5: e1000325.
20. Feng P., Li T., Guan Z., Franklin R.B., Costello L.C. The involvement of Bax in zinc-induced mitochondrial apoptosis in malignant prostate cells // Mol Cancer. 2008; 7: 25.
21. Freyschmidt-Paul P.M.K., Hoffmann R. Alopecia areata. In: Whiting DAB-PU, Tosti A., Trueb R., eds. Hair growth and disorders // Berlin: Springer, 2008: 311 – 320.
22. Fuchs E. Scratching the surface of skin development // Nature. 2007; 445: 834 – 42.
23. Fukamachi Y., Karasaki Y., Sugiura T., Itoh H., Abe T., Yamamura K., Higashi K. Zinc suppresses apoptosis of U937 cells induced by hydrogen peroxide through an increase of the Bcl-2/Bax ratio // Biochem Biophys Res Commun. 1998; 246: 364 – 69.
24. Ganss B., Jheon A. Zinc finger transcription factors in skeletal development // Crit Rev Oral Biol Med. 2004; 15 (5): 282 – 97.
25. Gilhar A., Kalish R.S. Alopecia areata: a tissue specific autoimmune disease of the hair follicle // Autoimmun Rev. 2006; 5: 64 – 69.
26. Goodman L.V., Ledbetter S.R. Secretions of stromelysin by cultured dermal papilla cells: differential regulation by growth factors and functional role in mitogen-induced cell proliferation // J Cell Physiol. 1992; 151: 41 – 49.
27. Haq F., Mahoney M., Koropatnick J. Signaling events for metallothionein induction // Mutat. Res. 2003; 533: 211–26.
28. Jahoda C. A., Mauger A., Bard S., Sengel, P. Changes in fibronectin, laminin and type IV collagen distribution relate to basement membrane restructuring during the rat vibrissa follicle hair growth cycle // J Anat. 1992; 181: 47 – 60.
29. Janes S. M., Lowell S., Hutter C. Epidermal stem cells // J. Pathol. 2002; 197: 479 – 91.
30. Jolma A., Yan J., Whittington T., Toivonen J., Nitta K.R., Rastas P. et al. DNA-binding specificities of human transcription factors // Cell. 2013; 152: 327 – 39.
31. Karasawa M., Nishimura N., Nishimura H., Tohyama C., Hashiba H., Kuroki T. Localization of metallothionein in hair follicles of normal skin and the basal cell layer of hyperplastic epidermis: possible association with cell proliferation // J Invest Dermatol. 1991; 97 (1): 97 – 100.
32. Karelina T.V., Goldberg G.I., Eisen A.Z. Matrilysin (PUMP) correlates with dermal invasion during appendageal development and cutaneous neoplasia // J Invest Dermatol. 1994; 103: 482 – 87.
33. Kawabe T.T., Rea T.J., Flenniken A.M., Williams B.R.G., Groppi V.E., Buhl A.E. Localization of TIMP in cycling mouse hair // Development. 1991; 111: 877 – 79.
34. Liacini A., Sylvester J., Li W.Q., Zafarullah M. Inhibition of interleukin-1-stimulated MAP kinases, activating protein-1 (AP-1) and nuclear factor kappa B (NF-kappa B) transcription factors down-regulates matrix metalloproteinase gene expression in articular chondrocytes // Matrix Biol. 2002; 21 (3): 251 – 62.
35. Lindner G., Botchkarev V.A., Botchkareva N.V., Ling G., Van der Veen C., Paus R. Analysis of apoptosis during hair follicle regression (catagen) // Am J Pathol. 1997; 151: 1601 – 17.
36. Lu W., Shapiro J., Yu M., Barekatin A., Lo B., Finner A., McElwee K. Alopecia areata: pathogenesis and potential for therapy // Expert Rev Mol Med. 2006; 8: 1 – 19.
37. Makhov P., Golovine K., Uzzo R.G. et al. Zinc chelation induces rapid depletion of the X-linked inhibitor of apoptosis and sensitizes prostate cancer cells to TRAIL-mediated apoptosis // Cell Death Differ. 2008; 15 (11): 1745 – 51.
38. Makhov P., Golovine K., Uzzo R.G., Rothman J., Crispin P.L., Shaw T. et al. Zinc chelation induces rapid depletion of the X-linked inhibitor of apoptosis and sensitizes prostate cancer cells to TRAIL-mediated apoptosis // Cell Death Differ. 2008; 15 (11): 1745-51.
39. McElwee K.J., Niyama S., Freyschmidt-Paul P., Wenzel E., Kissling S., Sundberg J.P., Hoffmann R. Dietary soy

- oil content and soy-derived phytoestrogen genistein increase resistance to alopecia areata onset in C3H/HeJ mice // *Exp Dermatol.* 2003; 12: 30 – 36.
40. McElwee K.J., Silva K., Beamer W.G., King L.E., Sundberg J.P. Melanocyte and gonad activity as potential severity-modifying factors in C3H/HeJ mouse alopecia areata // *Exp Dermatol.* 2001; 10: 420 – 29.
41. Milner Y., Sudnik J., Filippi M., Kizoulis M., Kashgarian M., Stenn K. Exogen, shedding phase of the hair growth cycle: characterization of a mouse model // *J Invest Dermatol* 2002; 119: 639-644.
42. Murphy G. Matrix metalloproteinases and their inhibitors // *Acta Orthop Scand.* 1995; 66: 55 – 60.
43. Naginiene R., Kregzdyte R., Abdrakhmanovas A., Ryselis S. Assay of trace elements, thyroid gland and blood indices in children with alopecia // *Trace Elements and Electrolytes.* 2004; 21: 207-10.
44. Nielsen A.E., Bohr A., Penkowa M. The Balance between Life and Death of Cells: Roles of Metallothioneins // *Biomark Insights.* 2007; 1: 99 – 111.
45. Philp D., Nguyen M., Scheremeta B., St-Surin S., Villa A.M., Orgel A. et al. Thymosin beta4 increases hair growth by activation of hair follicle stem cells // *FASEB J.* 2004; 18 (2): 385 – 87.
46. Randall V.A., Botchkareva N. V. The Biology of Hair Growth. In: Gurpreet S. Ahluwalia, eds. // *Cosmetics Applications of Laser & Light-Based Systems.* William Andrew; 2009: 3 – 35.
47. Sato N., Leopold P.L., Crystal R.G. Induction of the hair growth phase in postnatal mice by localized transient expression of Sonic hedgehog // *J Clin Invest* 1999; 104: 855 – 64.
48. Schmidt-Ullrich R., Paus R. Molecular principles of hair follicle induction and morphogenesis // *Bioessays.* 2005; 27: 247 – 61.
49. Stenn K.S., Paus R. Controls of hair follicle cycling // *Physiol Rev.* 2001; 81 (1): 449 – 94.
50. Tupler R., Perini G., Green M.R. Expressing the human genome // *Nature.* 2001; 409: 832 – 33.
51. Vanhoutteghem A., Djian P. Basonuclin 2: an extremely conserved homolog of the zinc finger protein basonuclin // *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004; 101 (10): 3468 – 73.
52. Vasak, M. Advances in metallothionein structure and functions // *J. Trace Elem. Med. Biol.* 2005; 19: 13 – 7.
53. Weiner L., Green H. Basonuclin as a cell marker in the formation and cycling of the murine hair follicle // *Differentiation.* 1998; 63 (5): 263 – 72.
54. Zitka O., Kukacka J., Krizkova S., Huska D., Adam V., Masarik M. et al. Matrix metalloproteinases // *Curr Med Chem.* 2010; 17 (31): 3751 – 68.