

Ocena poziomu stężeń bFGF i TGF-beta 1 w surowicy krwi chorych na łysienie plackowate oraz rola tych czynników w angiogenezie

The level of bFGF and TGF-beta 1 in alopecia areata patients' sera and their role in angiogenesis

Grażyna Chodorowska, Małgorzata Dąbrowska-Członka, Joanna Bartosińska, Bartłomiej Wawrzycki, Iwona Jazienicka

Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Dermatologii Dziecięcej Akademii Medycznej w Lublinie
kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. n. med. Grażyna Chodorowska

Post Dermatol Alergol 2007; XXIV, 3: 116–119

Streszczenie

Łysienie plackowate (AA) jest chorobą zapalną, dotyczącą mieszków włosowych, nieprowadzącą do powstawania blizn. Patogeneza AA, w której cykl włosa jest nieprawidłowy z przedwczesnym przejściem w fazę katagenu, pozostaje niejasna.

Angiogeneza polega na tworzeniu nowych naczyń z wcześniej istniejących kapilar. W dojrzałej skórze proces ten fizjologicznie zachodzi wokół anagenowych mieszków włosowych. Mieszki te wykazują dodatkowe działanie angiogenetyczne. W związku z tym zahamowanie angiogenezy może prowadzić do opóźnionego rozwoju mieszka włosowego oraz zapoczątkowania fazy katagenu, co ostatecznie prowadzi do wypadnięcia włosa.

Celem niniejszej pracy była ocena poziomu stężeń bFGF i TGF-beta 1 w surowicy chorych na łysienie plackowate. Choć nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic w poziomach bFGF i TGF-beta 1 między grupą osób chorych na AA a grupą kontrolną, należy kontynuować badania nad rolą angiogenezy w patomechanizmie łysienia plackowatego w celu opracowania nowych metod terapeutycznych w AA.

Słowa kluczowe: łysienie plackowate, mieszek włosowy, angiogeneza, bFGF, TGF-beta 1.

Abstract

Alopecia areata (AA) is regarded as a non-scarring, inflammatory disease of the hair follicle. The pathophysiology of abnormal hair cycle with premature catagen development in this disease remains unknown.

Angiogenesis is defined as the growth of new capillaries from pre-existing blood vessels. In the adult skin this process physiologically occurs in the dermis around anagen hair follicles. Furthermore, anagen follicles possess angiogenic properties. The data suggest that inhibiting angiogenesis leads to retardation of anagen development and initiation of catagen phase ally causing hair loss.

The aim of our study was to assess the level of bFGF and TGF-beta 1 in alopecia areata patients' serum.

There were no significant difference in bFGF and TGF-beta 1 levels between alopecia areata patients' and normal controls' serum.

Nevertheless, further studies on the role of angiogenesis in AA pathogenesis should be conducted to establish the novel therapeutic options for AA.

Key words: alopecia areata, hair follicle, angiogenesis, bFGF, TGF-beta 1.

Wstęp

Łysienie plackowate jest schorzeniem skóry owłosionej głowy oraz całego ciała o niepoznanej do końca etiopatogenezie. Przebieg choroby może być bardzo różny, indywidualny dla każdego pacjenta. Na owłosionej skórze

głowy pojawia się najczęściej ognisko bądź ogniska wyłysienia, które mogą ustępować samoistnie, bądź powiększać się, prowadząc do całkowitej utraty włosów.

Istnieje wiele hipotez tłumaczących etiopatogenezę łysienia plackowatego. Do najbardziej znanych należą teo-

Adres do korespondencji: lek. med. Małgorzata Dąbrowska-Członka, Katedra i Klinika Dermatologii, Wenerologii i Dermatologii Dziecięcej Akademii Medycznej w Lublinie, ul. Radziwiłłowska 13, 20-080 Lublin, tel. +48 693 865 039, faks +48 81 532 36 47, e-mail: gosiadab@yahoo.com

ria immunologiczna, autoimmunologiczna, genetyczna i psychogenna. Do tej pory nie wyjaśniono jednak, jakie czynniki odpowiadają za nagłe przejście mieszka włosa z fazy anagenu w fazę katagenu [1].

Mieszek włosowy to skomplikowana struktura, zbudowana zarówno z komórek epitelialnych, jak i mezenchymalnych. Przechodzi on przez cykliczny proces, składający się z trzech kolejnych faz – anagenu (wzrost włosa), katagenu (zahamowanie wzrostu włosa) oraz telogenu (okres spoczynku). W ciągu życia człowieka taki cykl powtarza się średnio 20–30 razy [2] i przebiega w sposób niesynchronizowany. U niektórych innych ssaków obserwuje się okresową utratę sierści, czyli linienie.

Mechanizmy regulacji cyklu włosowego są złożone i nadal nie poznano wszystkich czynników odpowiedzialnych za naprzemiennie następujące po sobie procesy indukcji oraz gwałtownego zahamowania wzrostu mieszka włosowego. Wskazuje się tutaj na istotną rolę komórek macierzy, fibroblastów brodawki włosa oraz licznych cytokin i czynników wzrostowych produkowanych i wydzielanych przez różne elementy mieszka [2]. Stwierdzono również znaczącą rolę hormonów oraz neuropeptydów wydzielanych przez okołomieszkowe zakończenia nerwowe.

Ostatnie dane z piśmiennictwa podkreślają ważną rolę zjawiska angiogenezy w prawidłowym cyklu mieszka włosowego. Opisano znaczne różnice w unaczynieniu wewnątrz- i zewnątrzmięzkowym w fazie anagenu i telogenu. Zmiany polegające na degeneracji pętli naczyń zauważono już w katagenu [3]. Wiadomo jednak, że tylko w anagenu – czyli fazie wzrostu – niektóre struktury mieszka włosowego wykazują zdolność produkcji związków mających istotny wpływ na indukcję oraz regulację procesu angiogenezy [3]. Istnieje wiele dowodów potwierdzających nasilenie procesu angiogenezy pomiędzy fazą telogenu a anagenem.

Do najważniejszych czynników biorących udział w powstawaniu naczyń krwionośnych należą VEGF (naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu), bFGF (zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów), TGF-beta 1 (transformujący czynnik wzrostu beta 1) oraz HGF (czynnik wzrostu hepatocytów).

Rola bFGF i TGF-beta 1 w łysieniu plackowatym pozostaje niejasna. Celem autorów niniejszej pracy była ocena stężenia poziomu tych czynników w surowicy krwi u chorych z łysieniem plackowatym i porównanie ich z grupą kontrolną.

Materiał i metody

Badaniem objęto grupę 18 chorych (12 kobiet – 67%, i 6 mężczyzn – 33%) hospitalizowanych w Klinice Dermatologii i Wenerologii w Lublinie z powodu zaostrzenia przebiegu łysienia plackowatego. Wiek chorych wahał się w granicach 11–54 lat (średnio 28 lat). Czas trwania schorzenia wynosił od roku do 14 lat (średnio 4,7 roku).

U 15 pacjentów obserwowano ogniska wyłysienia jedynie na skórze głowy, w tym w 2 przypadkach choroba miała charakter łysienia plackowatego rozlanego (*alopecia diffusa*), w 1 łysienia plackowatego wężykowatego (*ophiasis*), natomiast w 3 łysienia uogólnionego (*alopecia universalis*). Akcentacja mieszków włosowych oraz cechy odrostu widoczne były u 7 osób (39%). Grupa kontrolna obejmowała 17 osób zdrowych dobranych pod względem płci i wieku, u których nie występowały choroby o podłożu autoimmunologicznym. Od wszystkich badanych pobrano krew obwodową. Poziomy stężeń wybranych czynników oznaczono metodą immunoenzymatyczną ELISA – R&D System Europe LTD, Human FGF basic, Quantikina, oraz Bender MedSystem GmbH Europe – Human TGF beta 1 instant ELISA. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu komputerowego Statistica 6.0. W celu wykazania różnic między analizowaną grupą chorych a kontrolą posłużono się testem U Manna-Whitneya. Za istotne statystycznie przyjęto wyniki, w których współczynnik prawdopodobieństwa popełnienia błędu pierwszego rodzaju był mniejszy niż 0,05 ($p < 0,05$).

Wyniki

Wyniki badań autorów niniejszej pracy nie wykazały statystycznie istotnych różnic w stężeniu zarówno bFGF, jak i TGF-beta 1 pomiędzy chorymi z AA a stanowiącymi grupę kontrolną. Wartości dla bFGF wahały się u osób z łysieniem plackowatym od 5,0780 do 15,6810 pg/ml (średnio 10,01133,5066 pg/ml), a w grupie kontrolnej od 4,4940 pg/ml do 17,2960 pg/ml (średnio 8,49513,7256 pg/ml), $p=0,146442$, bez statystycznej różnicy ($p > 0,05$).

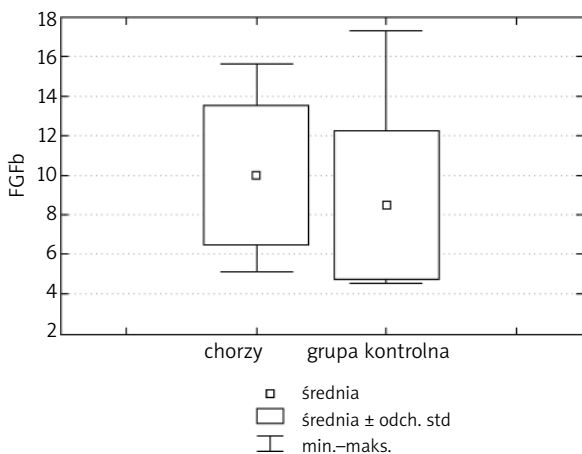
Dla TGF-beta 1 wartości te wahały się od 15,7320 do 69,7800 ng/ml (średnio 47,032012,6616 pg/ml) oraz od 7,1400 do 72,3120 ng/ml (średnio 44,665415,9377 pg/ml) odpowiednio dla osób chorych i zdrowych. Tutaj również nie wykazano statystycznej różnicy, $p=0,817288$ ($p > 0,05$).

Dyskusja

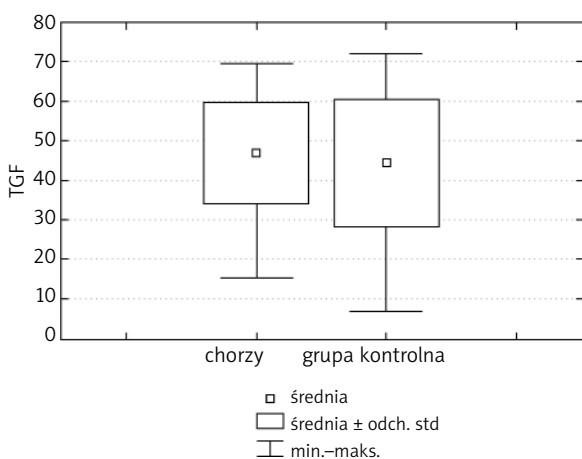
W procesie angiogenezy dochodzi do powstawania nowych naczyń krwionośnych poprzez migrację i proliferację komórek śródbłonka pochodzących z wcześniej istniejących kapilar [4].

Jest to złożony, wieloetapowy proces [5], zachodzący w rozwijającej się skórze płodu. U osób dorosłych aktywność angiogenetyczną obserwuje się podczas różnych procesów związanych z uszkodzeniem skóry, tj. podczas gojenia się ran, w stanach zapalnych (np. łuszczycy) czy nowotworzeniu. W zdrowej skórze angiogeneza zachodzi wokół mieszków włosowych będących w fazie wczesnego anagenu [5].

W badaniach przeprowadzonych na zwierzętach stwierdzono znacznie lepsze unaczynienie skóry w okolicach anagenowych niż telogenowych mieszków włosowych.



Ryc. 1. Zależność między poziomem stężenia bFGF (pg/ml) u osób z łysieniem plackowatym a osób stanowiących grupę kontrolną



Ryc. 2. Zależność między poziomem stężenia TGF-beta 1 (ng/ml) u osób z łysieniem plackowatym a osób stanowiących grupę kontrolną

wych. Dodatkowo tylko w fazie wzrostu wykryto proliferujące komórki endotelium w brodawce włosa. Pochewka zewnętrzna włosa i brodawka włosa były natomiast źródłem przynajmniej jednego czynnika angiogenego naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu VEGF [3]. W przeprowadzonych badaniach Mecklenburg i wsp. [3] stwierdzili obecność zmian w mikrounaczynieniu zarówno wewnątrz-, jak i zewnątrzmięzkowym w fazie anagenu, a także znaczący wzrost ilości proliferujących komórek śródbłonka naczyń w anagenu, w porównaniu z ich niewielką aktywnością w fazie telogenu.

Na proces angiogenezy wpływają różne czynniki wzrostu oraz cytokiny, m.in. VEGF, bFGF, TGF-beta 1, HGF i IL-8 [3].

Zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów – bFGF, jest dobrze poznanym związkiem wywierającym istotny wpływ na angiogenezę. Produkowany jest zarówno w zdrowych tkankach, komórkach nowotworowych, jak i aktywnych komórkach endotelium. Regulacja angiogenezy może zachodzić w dwóch mechanizmach – bezpośrednim poprzez aktywację komórek śródbłonka naczyń oraz pośrednim, prowadząc do wzrostu poziomu VEGF w komórkach endotelium. bFGF – podobnie jak VEGF – hamuje apoptozę komórek śródbłonka głównie poprzez wpływ na kaspazę 3 [6].

Stwierdzono szczególnie dużą aktywność tego czynnika w błonie podstawnej w okolicach wzrostu mieszków włosowych [7]. Przypuszcza się, iż bFGF wywiera wpływ na miejscową przebudowę oraz mitotyczną aktywność mieszków włosowych. W rozwijającej się skórze stwierdzono obecność receptorów dla tego czynnika w brodawkach skóry, keratynocytach warstwy podstawnej oraz w brodawkach mieszków włosowych: FGFR1 i FGFR2 [8]. Mechanizm działania nie został poznany, jednak w doświadczeniach na zwierzętach po wstrzyknięciu bFGF wykazano zapoczątkowanie i rozwój mieszków włosowych oraz jednoczesne opóźnienie cyklu włosa [7].

Transformujący czynnik wzrostu beta 1 – TGF-beta 1, wykazuje działanie chemotaktyczne na proangiogenne komórki zapalne, kierując je do miejsca tworzenia nowych naczyń [4]. Rola TGF-beta 1 jest jednak bardziej złożona, gdyż czynnik ten wraz z innymi związkami indukuje apoptozę komórek endotelium, przez co wpływa na remodeling, a szczególnie regresję sieci naczyń krwionośnych skóry [4]. Hibino i wsp. uważają, iż głównym czynnikiem indukującym apoptozę może być właśnie TGF-beta 1, który to w głównej mierze byłby odpowiedzialny za nagły początek katagenu w mechanizmie aktywacji kaskady kaspazy 9 i kaspazy 3 [9]. W jednym z przeprowadzonych badań *in vitro* wykazano, iż zwiększone stężenie TGF-beta 1 hamuje wzrost włosów, natomiast dodanie neutralizujących przeciwciał powoduje stymulację wzrostu włosów [9]. Największą aktywność tego czynnika stwierdza się w pochwycie zewnętrznej i wewnętrznej włosa, oraz w brodawce włosa, a także brodawkach skórnych [8]. Na podstawie ww. badań można stwierdzić, iż pod wpływem TGF-beta 1 dochodzi do zahamowania rozwoju i proliferacji mieszków włosowych.

Autorzy niniejszej pracy nie wykazali statystycznie istotnych różnic między poziomami stężeń obu tych czynników w surowicy osób chorych na łysienie plackowate a osób stanowiących grupę kontrolną. Uzyskane wyniki mogą być związane ze zbyt małą liczną grupą badanych i nadmiernym zróżnicowaniem odnośnie wieku chorych (między 11. a 54. rokiem życia), czasu trwania schorzenia (rok–14 lat), a także z różnorodnym obrazem klinicznym z niejednakową odpowiedzią na leczenie.

Autorzy uważają za celowe prowadzenie dalszych badań nad procesem angiogenezy, ze szczególnym zwróceniem uwagi na czynniki oraz cytokiny biorące udział w tym procesie u osób z łysieniem plackowatym, ale przeprowadzone na większej grupie chorych. W piśmiennictwie światowym dostępne są prace dotyczące roli angiogenezy w cyklu mieszków włosowych, a w badaniach na zwierzętach wykazano istotną rolę poszczególnych cytokin w tworzeniu naczyń. Doniesienia na temat angiogenezy w łysieniu plackowatym u ludzi są nadal nieliczne i niekiedy sprzeczne, dlatego też wydaje się słuszne kontynuowanie badań w tym kierunku.

Podsumowanie

Łysienie plackowate jest stosunkowo często spotykaną chorobą, która mimo wprowadzania coraz to nowszych metod terapii pozostaje ciągle dużym problemem klinicznym.

W badaniach przeprowadzonych przez autorów niniejszej pracy nie stwierdzono statystycznie istotnych korelacji w stężeniu w surowicy krwi bFGF czy TGF-beta 1, jednak kontynuacja badań nad procesem angiogenezy w patomechanizmie łysienia plackowatego mogłaby przyczynić się do opracowania skuteczniejszych metod terapii tej jednostki chorobowej.

Piśmiennictwo

1. Joss-Wichman E, Broniarczyk-Dyła G. Współczesne poglądy na etiopatogenezę łysienia plackowatego. *Post Dermatol Alergol* 2005; 4: 189-98.
2. Kozłowska U, Kozłowska A. Patofizjologia wzrostu i utraty włosów. *Przeł Dermatol* 2001; 1: 19-25.
3. Mecklenburg L, Tobin JD, Muller-Rover S, et al. Active hair growth (anagen) is associated with angiogenesis. *J Invest Dermatol* 2000; 114: 909-16.
4. Sepp NT, Fritsch P, Luger TA. Endothelial cells and angiogenesis. *Exp Dermatol* 1997; 6: 272-3.
5. Detmar M. Molecular regulation of angiogenesis in the skin. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 207-8.
6. Miho Y, Kouroku Y, Fujita E, et al. bFGF inhibits the activation of caspase-3 and apoptosis of P19 embryonal carcinoma cells during neuronal differentiation. *Cell Death Differ* 1999; 6: 463-70.
7. du Cros LD. Fibroblast growth factor and the hair cycle of the hairless mouse. *J Invest Dermatol* 1995; 104 (5 suppl.): 17S-18S.
8. Danilenko DM, Ring BD, Pierce GF. Growth factors and cytokines in hair follicle development and cycling: recent insights from animal models and the potentials for clinical therapy. *Mol Med Today* 1996; 2: 460-7.
9. Hibino T, Nishiyama T. Role of TGF-beta2 in human hair cycle. *J Dermatol Sci* 2004; 35: 9-18.