

Justyna DRUKAŁA¹
 Sylwia BOBIS¹
 Ewa ŻABIŃSKA-PŁAZAK²
 Anna WOJAS-PELC²

Molekularne podłoże zaburzeń pigmentacji w chorobach skóry

Molecular basis of pigmentation disorders in skin diseases

¹Pracownia Inżynierii Komórkowej i Tkankowej Zakładu Biologii Komórki Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytet Jagielloński, Kraków
 Kierownik: Dr hab. *Zbigniew Madeja*

²Klinika Dermatologii Collegium Medicum Uniwersytet Jagielloński, Kraków
 Kierownik: Dr hab. med. *Anna Wojas-Pelc*

Dodatkowe słowa kluczowe:

melanocyt
 zaburzenia barwnikowe
 bielactwo

Additional key words:

melanocyte
 pigmentation disorders
 vitiligo

Choroby skóry związane z zaburzeniami pigmentacji należą do jednych z najczęstszych schorzeń dermatologicznych. U podłoża tych zmian leżą różne mechanizmy związane z zaburzeniem funkcji melanocytów oraz czynników je regulujących. W pracy przedstawiono molekularne podstawy zaburzeń barwnikowych w najczęstszych chorobach skóry przebiegających z hiperpigmentacją (plamy soczewicowate starcze, melanoza Riehl'a, brodawka łojotokowa, włókniak, plamy café-au-lait, ostuda, atopowe zapalenie skóry) oraz hipopigmentacją (bielactwo, albinizm).

Zaburzenia barwnikowe skóry obejmują dwie zróżnicowane grupy schorzeń: zmiany o charakterze hiperpigmentacji oraz hipopigmentacji. Wyjaśnienie mechanizmów patofizjologicznych związanych z indukcją tych anomalii wymaga poznania budowy i funkcji melanocytów oraz czynników je regulujących.

Melanocyty należą do komórek pochodzenia neuroektodermalnego [18]. Wywodzą się one z grzebienia nerwowego i wędrują do naskórka płodowego podczas drugiego miesiąca rozwoju embrionalnego. Wędrówka melanoblastów (prekursorów melanocytów) odbywa się ścieżką grzbietowo-boczną, pomiędzy ektodermą, a powłoką skórno-mięśniową somitów (poza ścieżką brzusznią, zarezerwowaną dla komórek, które różnicują w neurony i komórki glejowe) [23]. Zaproponowano dwie różne hipotezy dla wyjaśnienia sposobu migracji i różnicowania komórek grzebienia nerwowego w melanocyty: model kierowania się ścieżką migracji (ang.: *pathway-directed model*), oraz model różnicowania poprzedzającego migrację (ang.: *premigration-directed model*). Pierwszy z tych modeli mówi, że komórki grzebienia nerwowego są ekspozowane na działanie czynników pochodzących z ektodermy lub dermatomiotomu, kierujących ich różnicowaniem w melanocyty. Drugi model podaje, że komórki grzebienia nerwowego, które wchodzi na ścieżkę grzbietowo-boczną, różnią się fenotypowo od komórek migrujących ścieżką brzusznią [23]. Udowodniono również, że migracja melanocytów jest regulowana poprzez mezenchymalno-epitelialne oddziaływanie z fibroblastami (np. gęstość melanocytów w skórze po wewnętrznej stronie dłoni i stóp jest pięć

Skin disorders connected with pigmentation disturbances are most frequent dermatological problems. Different mechanisms are involved in these changes, mainly those which regulate melanocyte function. In this work we focused on molecular basis of pigmentation disorders in dermatological diseases that present clinically with hyperpigmentation (lentigo senilis, Riehl melanosis, seborrheic keratosis, fibroma, café-au-lait patches melasma, atopic dermatitis) or hypopigmentation (vitiligo, albinism).

razy mniejsza niż w skórze innych części ciała). Fibroblasty stanowią heterogenną populację komórek w odniesieniu do podziałów komórkowych, starzenia się, syntezy białek macierzy zewnątrzkomórkowej oraz produkcji cytokin. Te pochodzące ze skóry wewnętrznej strony dłoni i stóp, wytwarzają duże ilości białka DKK1 (ang. *dickkopf-1 protein*), które jest inhibitorem drogi przekazu sygnału Wnt (*Wingless type*). Białka Wnt są glikoproteinami uczestniczącymi w regulacji rozwoju embrionalnego, a także w proliferacji i różnicowaniu wielu komórek w tym także melanoblastów. Wiązanie Wnt z receptorami śródbłonowymi komórek hamuje degradację β -kateniny, która przemieszcza się do jądra komórkowego i wiąże się z czynnikiem transkrypcyjnym związanym z mikroftalmią (MITF-M) co w rezultacie moduluje wzrost i różnicowanie melanocytów. Zablockowanie tej drogi sygnałowej przez białko DKK1 prowadzi do zaburzeń w melanogenezie.

Jednak z drugiej strony, fibroblasty z innych części ciała wykazują wyższy poziom ekspresji białka DKK3, które nie wykazuje żadnego efektu na proliferację komórek [23].

Rola ochronna melaniny

Pigmentacja warunkuje koloryt skóry, włosów i oczu, ale ma również istotne znaczenie ochronne dla tkanek położonych głębiej pod skórą. Odgrywa rolę protekcyjną przed niszczącym działaniem promieniowania ultrafioletowego (UV), które może prowadzić z jednej strony do przyspieszonego starzenia się skóry i stymulować procesy karcinogenezy. Melanina spełnia także funkcję antyoksydacyjną i jest zmiataczem wolnych rodników [8]. Jest ona syntetyzowana

Adres do korespondencji:

Dr Justyna Drukała
 Pracownia Inżynierii Komórkowej i Tkankowej Zakładu Biologii Komórki Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ 30-387 Kraków ul. Gronostajowa 7
 e-mail: justyna@mol.uj.edu.pl, ezabinsk@cm-uj.krakow.pl, wojaspelca@su.krakow.pl

i odkładana wewnątrz unikatowych dla melanocytów organelli, nazywanych melanosomami, pojawia się w trakcie różnicowania melanosomu. Proces ten obejmuje kilka etapów rozpoczynając się formowaniem pęcherzyków określanych jako melanosomy Stadium I. Są to stosunkowo amorficzne i sferycznego kształtu organelle, które odpączkują od retikulum endoplazmatycznego (ER), nie posiadają aktywności tyrozynazy ani strukturalnych komponentów wewnętrznych. Enzym tyrozynaza pojawia się w DOPA-pozytywnych pęcherzykach Golgiego, które następnie łączą się z melanosomami Stadium I, prowadząc do ich transformacji do wydłużonych, fibrylarnych organelli, znanych jako melanosomy Stadium II. W nich rozpoczyna się synteza melaniny, a następnie jej odkładanie na wewnętrznych fibrylach organelli, określanych wówczas jako melanosomy Stadium III. W bardzo upigmentowanych komórkach synteza i depozycja melaniny trwa do momentu, gdy już nie można wyróżnić żadnych strukturalnych elementów wewnątrz (takie organelle nazywane są melanosomami Stadium IV) [8]. Poza powszechnie występującymi białkami strukturalnymi, dodatkowo melanosomy posiadają charakterystyczne tylko dla nich białka, które można podzielić na trzy kategorie:

1. Składniki enzymatyczne: tyrozynaza, białko pokrewne tyrozynazie (ang. *tyrosinase-related protein 1; TRP1*) oraz tautomezaza dopachromu (DCT);

2. Składniki strukturalne: Pmel 17/gp100;

3. Składniki posiadające inne lub niezdefiniowane funkcje: MART 1 oraz OA 1 [8].

Kluczową rolę w syntezie melaniny odgrywa aktywność tyrozynazy. Melanogeneza rozpoczyna się hydroksylacją aminowego końca aminokwasu tyrozyny. Reakcja ta prowadzona jest przez tyrozynazę i jej efektem jest generacja DOPA-chinonu. W przypadkach braku innych komponentów enzymatycznych w melanosomach, związek ten ulega szybkiej cyklizacji tworząc DOPA-chrom. Następnie przechodzi dekarboksylację, oksydację i polimeryzację, formując DHI-melaninę, czarną, nierozpuszczalną formę pigmentu dużej masy molekularnej [17]. W melanosomach występują jeszcze dwa inne enzymy należące do rodziny tyrozynazy, które mogą modyfikować produkowane typy melaniny. Do tych enzymów należą: DCT oraz TRP1.

W obecności DCT, grupa karboksylowa DOPA-chromu, która byłaby spontanicznie utracona, jest utrzymywana i zamiast DHI powstaje jego karboksylowa pochodna – DHICA [19]. Prowadzi to do dużo wolniejszej oksydacji i zachodzącej kolejno polimeryzacji, dając w rezultacie mniej rozpuszczalną, o niższej masie molekularnej i jaśniejszej barwy melaninę, znaną jako DHICA-melanina. Uważa się, że powstałe DCT i DHICA (zamiast DHI), może wpływać cytotoksycznie w stosunku do melanocytów. Białko gp100 kontroluje produkcję obydwu form – DHI – oraz DHICA-melaniny, natomiast białko P reguluje pH w melanosomach [6]. Również białko TRP1 spełnia ważną funkcję jako białko opiekuńcze, związane z tyrozynazą, a jego dysfunkcja

prowadzi do jednej z form albinizmu [10].

Poza opisanymi powyżej dwoma formami eumelaniny, może być produkowana w melanocytach żółto-czerwona feomelanina. Dzieje się tak w przypadkach, gdy wewnątrz melanosomów występują duże ilości aminokwasów bogatych w siarkę, takich jak cysteina lub glutation. Ten typ melaniny jest związkiem zawierającym siarkę, utworzonym z benzotioazotowych części pochodzących z cysteinidopa [7]. Uznaje się, że feomelanina jest fotolabilnym fotocuczulaczem, szkodliwym dla melanocytów i nie chroniącym skóry przed niekorzystnym działaniem promieniowania UV. Eumelanina, w przeciwieństwie do feomelaniny, jest fotostabilnym polimerem o właściwościach fotoprotekcyjnych. Jednakże, decydujący jest stosunek procentowy pomiędzy tymi dwoma typami melaniny, który warunkuje protekcyjne działanie pigmentu i kolor skóry [21,22].

Synteza melaniny zachodzi równolegle z wędrowką melanosomu z obszaru perinuklearnego w kierunku obrzeży melanocyta. Proces ten umożliwia transfer melanosomu do otaczających keratynocytów. Ruch melanosomu jest możliwy dzięki obecności F-aktyny i tubuliny oraz specyficznych dla tych organelli kompleksów białkowych. Wśród nich można wyróżnić: białko Rab27a, które znajduje się na błonie melanosomu i łączy się z kolejnym białkiem – melanofiliną, a ta w ostateczności wiąże się z miozyną Va. Ostatnie w tym szeregu białko przyłącza się do F-aktyny [8]. Jeśli funkcja którejkolwiek z tych protein zostanie uszkodzona (np. poprzez mutację), może dojść do zaburzenia prawidłowego ruchu melanosomu.

Regulacja melanogenezy

Proces pigmentacji jest regulowany przez działanie promieni UV oraz poprzez aktywność pewnych cytokin i czynników wzrostu: hormon stymulujący melanocyty α-MSH (ang. *melanocyte stimulating hormone*), czynnik martwicy nowotwory TNF-α (ang. *tumour necrosis factor-α*), endotelinę ET (ang. *endothelin*), czynnik komórek macierzystych SCF (ang. *stem cell factor*) oraz czynnik wzrostu fibroblastów b-FGF (*Basic fibroblast growth factor*). Błonowe receptory dla tych czynników, takie jak: c-KIT (receptor dla SCF) i MC1R (ang. *melanocortin receptor*; receptor dla α-MSH), pośredniczą w melanogenezie przez aktywację specyficznego dla melanocytów czynnika transkrypcyjnego związanego z mikroftalmią – MITF-M (ang. *melanocyte-specific microphthalmia-associated transcription factor*), pośrednio wpływając na transkrypcję wielu docelowych antygenów melanosomalnych [6]. Proces pigmentacji, jak to było omawiane wcześniej, wymaga współdziałania wielu składników naskórka i skóry właściwej. Zależy od interakcji pomiędzy melanocytami, keratynocytami oraz fibroblastami [7,8]. Interakcje te zachodzą poprzez cytokiny, działające na drodze parakrynej i autokrynej poprzez receptory w błonach komórek docelowych. W odniesieniu do melanogenezy, zależności te dotyczą głównie następujących czynników melanogenicznych:

- endoteliny 1 (ET-1), czynnika stymulującego wzrost kolonii granulocytów (G-CSF), czynnika wzrostu komórek macierzy-

stych typu błonowego (mSCF), związane go ze wzrostem onkogenu α (GRO-α); dla interakcji pomiędzy keratynocytami i melanocytami.

- czynnika wzrostu hepatocytów (HGF) oraz rozpuszczalnej formy SCF (sSCF) dla oddziaływań melanocytów z fibroblastami [9].

Melanocyty i keratynocyty tworzą w prawidłowym naskórku jednostkę zwaną „*epidermal-melanin unit*” [12]. W strukturze tej 1 melanocyt przypada na 5 do 8 keratynocytów ułożonych wzdłuż linii błony podstawnej. Każdy melanocyt sięga swoimi wypustkami do wyżej położonych warstw naskórka, transportując melanosomy, pęcherzyki zawierające pigment, odpowiednio do 35 keratynocytów. Niezróżnicowane keratynocyty warstwy bazalnej regulują wzrost melanocytów, liczbę tworzących przez nie wypustek, a także ekspresję molekuł powierzchniowych, potwierdzając tym samym, iż ten wysoko uporządkowany wzór organizacyjny tworzy strukturalną bazę dla regulacji wewnątrzkomórkowych. Dotychczas, nie wyjaśniono, w jaki sposób melanocyty i keratynocyty potrafią utrzymywać opisany stan równowagi. Prawidłowe melanocyty wyizolowane ze skóry, a następnie hodowane w warunkach *in vitro*, wykazują ciągłą proliferację aż do czasu starzenia się. W hodowlach mieszanych melanocytów z niezróżnicowanymi keratynocytami wchodzi one w kontakt typu komórka-komórka i w tych warunkach ich wzrost jest ściśle regulowany, przez co proporcja melanocytów do keratynocytów pozostaje stała. Wykazano natomiast, że ani zróżnicowane keratynocyty ani fibroblasty nie mają zdolności regulacji proliferacji melanocytów [12].

Każde zakłócenie naturalnie występujących zależności pomiędzy różnymi typami komórek skóry może prowadzić do nieprawidłowej pigmentacji naskórka.

Stwierdzono, iż zaburzenia w transdukcji sygnału w obrębie pewnych sieci cytokin o aktywności parakrynej i autokrynej i ich receptorów są związane z genozą różnych chorób o podłożu pigmentacyjnym, prowadząc do zredukowanej lub nadmiernej pigmentacji.

W przebarwieniach indukowanych ultrafioletem B stwierdzono zaburzenia w oddziaływaniach ET-1 z receptorem ET B oraz SCF z receptorem c-KIT, natomiast indukowanych ultrafioletem A – upośledzoną transdukcję sygnału od czynnika stymulującego wzrost kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF). W barwnikowych plamach starczych wykazano podwyższoną ekspresję ET-1 w komórkach naskórka oraz jej receptora na powierzchni melanocytów, także błonowego SCF. W melanozie Riehl'a wykazano podwyższoną ekspresję onkogenu α (GRO-α), regulującego proliferację melanocytów, a nadekspresję sfingozylfosforylocholiny w hypopigmentacji występującej w przebiegu atopowego zapalenia skóry. Brodawkom łojotokowym towarzyszy nadekspresja ET-1, w włókniaku skórnym i plamach café-au-lait odnotowano nadekspresję rozpuszczalnego typu SCF oraz czynnika wzrostu hepatocytów (HGF). W bielactwie nabytym wykazano nadekspresję receptora a także c-KIT na powierzchni melanocytów [9].

Najczęstsze choroby przebiegające z hiperpigmentacją

Plamy soczewicowate starcze (*Lentigo Senilis*)

Plamy soczewicowate starcze klinicznie odpowiadają obszarom skóry o wyraźnie zaznaczonej pigmentacji, pojawiają się w wieku starszym, szczególnie w miejscach narażonych na ekspozycję na promieniowanie ultrafioletowe. W badaniu histopatologicznym obserwuje się dużą liczbę melanocytów produkujących melaninę, które są zlokalizowane pomiędzy keratynocytami o wysokim potencjale proliferacyjnym, tak jak to występuje w mieszkach włosowych. To właśnie keratynocyty aktywują sąsiadujące melanocyty poprzez wydzielanie cytokin stymulujących melanocyty, takich jak ET-1 oraz mSCF. ET-1 jest jedyną cytokiną, która wykazuje podwójny efekt stymulacyjny, zarówno na syntezę DNA jak i na produkcję melaniny przez ludzkie melanocyty. Wydzielanie tej proteiny jest regulowane przez konwertazę endoteliny 1 (ECE-1a), enzym występujący wewnątrz keratynocytów, a jej działanie na melanocyty zachodzi za pośrednictwem receptora ET B, który jest receptorem transbłonowym asocjującym z białkami G. Wiadomo, że produkcja cytokiny ET-1 przez keratynocyty, jest podwyższona w tej chorobie, czemu towarzyszy również zwiększona ekspresja receptora ET B na melanocytach. Oddziaływanie pomiędzy ligandem i receptorem uruchamia kaskadę reakcji, która prowadzi do podwyższonej ekspresji tyrozynazy, a w efekcie do zwiększonej produkcji melaniny. Ponadto, w zmienionym chorobowo naskórku, wykazano podwyższoną ekspresję cytokiny SCF, potwierdzając, iż obydwie kaskady: związana z ET-1 oraz z SCF, odgrywają istotną rolę w hiperpigmentacyjnym mechanizmie obserwowanym w barwnikowych plamach starczych [9].

Melanoza Riehl'a (*Reihl's Melanosis*)

Pojawiająca się w późnym wieku hiperpigmentacja indukowana alergią na fenylozonoftal (PAN), jest znana również jako pigmentacyjne kosmetyczne zapalenie skóry. Choroba ta jest związana z podwyższoną produkcją białka GROa przez keratynocyty, które jest wydzielane w czasie procesów biologicznych zachodzących w następstwie skórnej reakcji alergicznej, kiedy to dochodzi do zwiększonej produkcji IL-1a przez aktywowane limfocyty T. IL-1a również stymuluje produkcję i wydzielanie cytokiny ET-1 przez keratynocyty i aktywuje ścieżkę transdukcji sygnału, włączając tworzenie trifosfoinozytoli Ins(1,4,5)P₃, wewnątrzkomórkową mobilizację jonów wapniowych Ca²⁺ oraz aktywację kinazy białkowej C (PKC). Białko GROa w swoim dalszym działaniu stymuluje melanocyty poprzez aktywację szlaku sygnalizacyjnego związanego z PKC, prowadząc do nadmiernej pigmentacji skóry [9].

Brodawka łojotokowa (*Seborrheic keratosis*)

Powyższa choroba jest częstym przypadkiem łagodnego rozrostu naskórka z wyraźnie zaznaczoną pigmentacją naskór-

ka. Aktywacja melanocytów zachodzi pod wpływem specyficznych cytokin, uwalnianych w dużych ilościach przez otaczające keratynocyty. W obrębie zmian stwierdzono wzmożoną ekspresję proteiny ET-1 oraz towarzyszącą jej podwyższoną ekspresję tyrozynazy [9].

Włókniak skóry (*Dermatofibroma*)

Włókniak charakteryzuje się nadmierną akumulacją proliferujących komórek fibroblastopodobnych oraz histiocytów, otoczonych przez dojrzały kolagen, a także często przez powiększone kapilary (włośniczki). Naskórek pokrywający zmianę wykazuje wyraźną hiperpigmentację z łagodnym rogowaceniem. W molekularnym obrazie tej choroby widoczny jest podniesiony poziom cytokin wywodzących się z nowotworowych komórek fibroblastopodobnych, czyli sSCF oraz HGF. Cytokiny te dyfundują przez warstwę naskórka i wykazują efekt stymulujący na melanocyty, pobudzając je do silniejszej ekspresji tyrozynazy, co prowadzi do zwiększonej pigmentacji naskórka. Jednakże pigmentacja ta w włókniaku skórnym jest ograniczonej tylko do obszarów otaczających guzy fibroblastyczne [9].

Plamy cafe-au-lait (CALMs) (*Café-au-lait macules*)

CALMs to jasnobrązowe, pozbawione owłosienia, dobrze odgraniczone plamy. Są one najlepiej znanym objawem nerwiakowłókniakowatości skórnej typu 1 (NF1; choroba *von Reckinghamusa*) i są obecne u prawie 100% pacjentów z NF1. Obraz histologiczny plam *cafe-au-lait* w tej chorobie charakteryzuje się zwiększoną liczbą melanocytów w naskórku oraz wzrostem liczby melanocytów wykazujących prawidłową aktywność tyrozynazy. Pomimo, iż etiologia zmian nie jest do końca poznana, zaproponowano mechanizm wyjaśniający jej powstawanie, w którym fibroblastyczne komórki nowotworowe wydzielają duże ilości rozpuszczalnej formy SCF. Cytokina ta pobudza melanocyty do proliferacji, jak również komórki tłuszczne, których liczba w skórze właściwej otaczającej guz fibroblastyczny, jest znacznie zwiększona [9].

Ostuda (melasma)

Melasma jest częstym schorzeniem dotyczącym przede wszystkim kobiet, manifestującym się dobrze ograniczonymi, nieregularnymi plamami zlokalizowanymi na twarzy i szyi. Najistotniejszymi czynnikami ryzyka rozwoju ostudy jest predyspozycja genetyczna (schorzenie szczególnie często występują u rasy latynoskiej) oraz ekspozycja na promieniowanie ultrafioletowe. Postuluje się rolę żeńskich hormonów płciowych (estrogenów i progesteronu) w powstawaniu zmian pigmentacyjnych. Zmiany mogą pojawiać się w czasie ciąży, w trakcie stosowania antykoncepcji hormonalnej, hormonalnej terapii zastępczej, towarzyszyć rozwojowi guzów hormonalnie czynnych i innych schorzeń.

Atopowe zapalenie skóry (*Atopic Dermatitis*)

Mechanizm molekularny leżący u podłoża tej choroby polega na nadmiernej pro-

dukcji enzymu – deacylazy sfingomieliiny (SM), która trawi wiązanie N-acylowe sfingomieliiny (SM). W skórze pacjentów z atopowym zapaleniem skóry deacylaza SM wytwarza sfingozylfosforylcholinę (SPC) zamiast ceramidu (CR), który u zdrowych osób produkowany jest dzięki aktywności sfingomielinazy (Smase). Defekt ten prowadzi do niedoboru ceramidu, co jest przyczyną występowania nasilonej suchości skóry u chorych z atopowym zapaleniem skóry. Powoduje to również gromadzenie dużej ilości metabolitów pośrednich SPC w warstwie rogowej naskórka tych osób. SPC wykazuje aktywność biologiczną w wielu różnych typach komórek, takich jak fibroblasty, keratynocyty i komórki endotelialne. Zdolność tychże komórek do pobudzania keratynocytów do nadmiernego wydzielania cytokin prozapalnych i białek adhezji międzykomórkowej typu 1 (ICAM-1), może nasilać stan zapalny skóry chorych z atopowym zapaleniem skóry. Deacylaza SM jest zlokalizowana w górnych warstwach naskórka i SPC może stymulować sąsiadujące komórki epidermalne. Wykazano że, SPC w znaczący sposób pobudza produkcję melaniny w ludzkich melanocytach, poprzez zwiększoną ekspresję tyrozynazy, czynnika transkrypcyjnego MITF-M, ETBR oraz c-KIT. Powyższe czynniki, produkowane w nadmiernej ilości, prowadzą do zwiększonej pigmentacji naskórka w wyprysku atopowym [9].

Należy podkreślić, że u osób predysponowanych po ustąpieniu zapalnych schorzeń skóry mogą pozostać przebarwienia.

Najczęstsze schorzenia przebiegające z hipopigmentacją skóry

Bielactwo

Etiopatogeneza choroby pozostaje nadal niejasna. W celu wyjaśnienia patofizjologicznych mechanizmów zaangażowanych w dysfunkcję lub degenerację melanocytów w skórze bielacej, zaproponowano kilka hipotez. Żadna z nich nie wyjaśnia wszystkich zjawisk leżących u podłoża zmian. Prawdopodobnie, wiele czynników współdziała w rozwoju bielactwa. Zjawisko powstawania odbarwień na drodze różnych procesów tłumaczone jest [9]:

- mechanizmem autoimmunologicznym, w którym przeciwciała lub cytotoksyczne limfocyty T, skierowane przeciwko melanocytom lub ich specyficznym organelom (melanosomom), są produkowane przez pacjentów z bielactwem i prowadzą do śmierci lub apoptozy melanocytów;
- mechanizmem autocytotoksycznym z udziałem superoksydantów, włączając hydroperoksydazę, które są produkowane w nadmiernych ilościach w skórze pacjentów z bielactwem. Wykazują one toksyczne działanie w stosunku do melanocytów lub otaczających je keratynocytów, obniżając produkcję białek, niezbędnych dla przeżycia i prawidłowego funkcjonowania melanocytów wewnątrz naskórka;
- podłożem genetycznym w pewnych przypadkach bielactwa. Zauważono, że częstość występowania choroby wzrasta wraz z liczbą osób chorujących na bielactwo w danej rodzinie. Dziedziczenie w tych przy-

padkach jest prawdopodobnie wielogenowe. Także kombinacja mutacji w różnych genach może być czynnikiem krytycznym w powstawaniu choroby. Do zapoczątkowania rozwoju choroby, niezbędne są pewne czynniki stymulujące;

- dysfunkcją nerwową – zmiany białacze mają czasami rozkład segmentalny na tułowiu oszczędzając obszary nieunierwione u pacjentów z uszkodzeniami centralnego systemu nerwowego. Wykazano zmniejszone wydzielanie potu w miejscach zmian w bielactwie segmentalnym, lub nieznaczne zmiany degeneracyjne lub regeneracyjne w aksonach i komórkach Schwanna docierających do plam bielacznych;
- działaniem pewnych związków u pacjentów predysponowanych (np. środki chemiczne stosowane w fotografii – fenole);
- kombinacją powyższych mechanizmów.

Jakkolwiek prawdziwe może być stwierdzenie, że każdy z wyżej opisanych mechanizmów może wносить wkład w patogenezę bielactwa, dużą popularnością w ostatnich latach cieszy się teoria immunologiczna [1,6,10]. Poparciem dla tej teorii jest częste powiązanie bielactwa ze schorzeniami o podłożu autoimmunologicznym: chorobą Hashimoto, Graves'a, cukrzycą insulinozależną typu 1 oraz chorobą Addisona. W wielu badaniach wykazano obecność przeciwciał i autoreaktywnych limfocytów T skierowanych przeciwko antygenom melanocytów: białku o masie 35 kDa, 90 kDa, tyrozinazie, TRP1, TRP2, Pmel 117 [2, 15]. Wiadomo, że melanocyty odgrywają istotną rolę w systemie obronnym skóry. Komórki te mają zdolność generacji takich cytokin prozapalnych, jak: IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β , GM-CSF oraz mogą aktywnie produkować tlenek azotu (NO) dzięki obecności enzymu b-NOS (*brain nitric oxide synthase*). Wszystkie te czynniki współdziałają w modulowaniu odpowiedzi immunologicznej wewnątrz środowiska skóry [6]. Melanocyty mogą także wychwytywać egzogenne antygeny w procesie fagocytozy i prezentować je proliferującym i cytotoksycznym limfocytom T CD4+, w kontekście MHC II. Na ich powierzchni stwierdza się zwiększoną ekspresję cząsteczek ICAM-1 i LIF-3. Antygeny, które nie są prezentowane przez melanocyty, mogą być transportowane do otaczających komórek w procesie transferu organelli, co jest specyficznym zjawiskiem dla melanosomów [6].

Potwierdzeniem roli zjawisk immunologicznych w etiologii bielactwa jest wykazanie dużej liczby komórek stanu zapalnego na pograniczu plam bielacznych, czemu towarzyszy wysoki poziom prozapalnych cytokin w infiltratach tkankowych pochodzących z miejsc zmienionych chorobowo. W badaniach histochemicznych dominują następujące komórki stanu zapalnego: limfocyty CD3+, CD4+, CD8+; oraz cytokiny: IL-2, IFN- γ , IL-6, IL-8 [3,24]. U pacjentów z bielactwem poziom GM-CSF oraz TNF jest niższy w porównaniu z osobami zdrowymi [24]. Sugeruje się, że zarówno zaburzenia komórkowej, jak i humoralnej odpowiedzi immunologicznej mogą odgrywać rolę w patogenezie bielactwa. Powstające przeciwciała mogą zniszczyć melanocyty w reakcji z

udziałem dopełniacza i cytotoksyczności komórkowej zależnej od przeciwciał [16].

Na podstawie uzyskanych wyników badań wydaje się, że pewne parakryne cytokiny oraz ich receptory są zaamogą przyczyniać się do dysfunkcji lub całkowitej utraty melanocytów, w naskórku bielaczym. Pierwszorzędną rolę w regulacji funkcji melanocytów w naskórku odgrywają: SCF i ET-1.

Jednak wiele badań wskazuje, że całkowita utrata pigmentacji naskórka powstaje na skutek wystąpienia punktowych mutacji w specyficznych receptorach dla ligandów melanogenicznych, takich jak: ET-3 lub SCF [11].

Aby zmierzyć ekspresję różnych białek badano biopaty skóry pacjentów pobrane z ognisk bielacznych [11]. W zmienionym chorobowo naskórku stwierdzono: zwiększoną ekspresję transkryptów ET-1 i SCF [RT-PCR]; zwiększoną ekspresję białka mSCF (ale nie sSCF) [*Western blotting*].

Badane cytokiny są uwalniane przez keratynocyty, stąd wynioskowano, że w naskórku dotkniętym bielactwem występuje nadmierna produkcja cytokin przez keratynocyty.

Badaniem immunohistochemicznym potwierdzono w centrum plamy bielacznej brak immunoreaktywnych melanocytów, podczas gdy na obrzeżu ogniska bielactwa odnotowano jedynie niewielki spadek liczby komórek immunoreaktywnych w stosunku do ETBR i tyrozinazy. Co ciekawe, na obrzeżu plamy bielacznej wykazano wyraźny spadek liczby melanocytów wykazujących ekspresję receptora c-KIT i białka MITF-M. Natomiast badanie skóry prawidłowej przylegającej do plamy bielacznej, wykazało jedynie nieznaczne zmniejszenie liczby melanocytów. Na podstawie powyższych wyników stwierdzono, że spadek ekspresji białek c-KIT i MITF-M, ma charakter spadku gradientowego, począwszy od obrzeża w kierunku centrum plamy bielacznej. Ze względu na duże podobieństwo we wzorze ekspresji pomiędzy białkiem c-KIT a MITF-M, wyjaśniono poniżej jaka relacja zachodzi między nimi.

Receptor c-KIT i czynnik transkrypcyjny MITF-M wykazują szereg interakcji. MITF-M jest niezbędny dla podtrzymywania ekspresji proteiny c-KIT w melanoblastach. Sygnalizacja wewnątrzkomórkowa pochodząca od białka c-KIT moduluje aktywność MITF oraz jego stabilność w melanocytach. MITF-M jest jedną z izoform białka MITF, która jest specyficzna dla melanocytów i jej ekspresja zachodzi tylko w melanocytach i komórkach czerniaka. Białko to jest odpowiedzialne za regulację transkrypcji genów specyficznych dla melanocytów, włączając tyrozinazę i białko TRP1, co w ostateczności prowadzi do różnicowania melanocytów. Ekspresja MITF-M jest regulowana poprzez kaskadę reakcji uruchamianą przez związaną SCF z receptorem. W odpowiedzi na aktywację sygnału po utworzeniu połączenia SCF/SCF receptor, MITF-M jest fosforylowany przez zaktywowane kinazy MAP, przechodzi ubikwitynację i ulega translokacji do jądra komórkowego, gdzie aktywuje transkrypcję kilku genów, w tym genu dla tyrozinazy [11].

Ostatnio pojawiły się dane potwierdzające

obecność genetycznego współdziałania pomiędzy MITF-M i Bcl2 w ludzkich melanocytach. Niedobór lub brak ekspresji MITF-M w melanocytach prowadzi do apoptozy, jako wynik obniżonej ekspresji antyapoptotycznego białka Bcl2. Wykryto również bliski związek pomiędzy ekspresją MITF-M a c-KIT, poprzez ramkę E-box w sekwencji promotora c-KIT [11].

Dlatego też, podobieństwa we wzorze ekspresji czynnika MITF-M i receptora c-KIT sugerują, że spadek ekspresji białka c-KIT w melanocytach znajdujących się na obrzeżu plamy bielacznej, wynika ze zmniejszonej ekspresji MITF-M. Co więcej, jako że niedobór czynnika MITF-M może być związany z podejrzeniem wejścia melanocytów w apoptozę kierowaną przez Bcl2, może okazać się prawdziwe, że melanocyty zlokalizowane w plamie bielacznej, jak również znajdujące się w naskórku normalnym ale przylegającym do uszkodzonego, mają duże predyspozycje do wejścia w apoptozę. Wydaje się również prawdopodobne, że niedobór receptora KIT na powierzchni błony melanocytu, który jest niezbędny dla wiązania SCF, a także spełnia ważną rolę w fizycznym utrzymywaniu melanocytów wewnątrz naskórka, może prowadzić do odrywania się melanocytów z naskórka. Dotychczas nie ma doniesień na temat mutacji w genie dla receptora c-KIT w melanocytach pochodzących z ognisk bielacznych [11].

Powyższe dowody potwierdzają pierwszorzędną rolę interakcji pomiędzy melanocytami i keratynocytami w podtrzymywaniu prawidłowych funkcji melanocytów wewnątrz naskórka.

Albinizm

Jest to grupa genetycznie uwarunkowanych zaburzeń, charakteryzujących się częściowym lub całkowitym brakiem melaniny w obrębie skóry, mieszków włosowych i oczu. Obecnie wyróżnia się 4 typy albinizmu oczno-skórnego (oculocutaneous albinism OCA), w zależności od zidentyfikowanego defektu genetycznego. Typ 1 OCA charakteryzuje się obniżeniem lub brakiem aktywności tyrozinazy [20]. Dotychczas zidentyfikowano prawie 80 mutacji w obrębie genu tyrozinazy (TYR; 11p11). Typ 2 OCA spowodowany jest mutacją w genie P (15q11.2-12) [19]. Rola białka P nie jest dotychczas poznana, ale wstępne doniesienia wskazują, że reguluje ono pH melanocytów. OCA typu 3 wywołany jest mutacją genu białka 1 związanego z tyrozinazą (tyrosinase-related protein 1 TYRP1; 9p23) [20]. Białko to bierze udział w syntezie eumelaniny, prawdopodobnie poprzez stabilizację tyrozinazy. Ostatnio wyróżniono 4 typ OCA [4]. Defekt genetyczny w tej postaci albinizmu dotyczy genu kodującego białko transportowe związane z błoną (*membrane-associated transporter protein*, MATP; 15p). Osobną grupę schorzeń stanowią zaburzenia dotyczące przede wszystkim nabłonka barwnikowego siatkówki określane jako albinizm oczny (*ocular albinism* – OA).

Klinicznie, w zależności od defektu genetycznego leżącego u podstaw schorzenia, albinizm stanowi całe spektrum zaburzeń barwnikowych. U osobników całkowicie pozbawionych melaniny skóra ma kolor mlecz-

nobiały, włosy biały, a oczy niebiesko-szary. W postaci 3 OCA występują rude włosy, nieznaczne zabarwienie skóry.

Albinizm jest schorzeniem predysponującym do rozwoju nowotworów skóry, zwłaszcza raka kolczystokomórkowego. U chorych z albinizmem najistotniejszym elementem postępowania jest całoroczna fotoprotekcja.

Mimo poznania wielu mechanizmów molekularnych będących przyczyną rozwoju zaburzeń klinicznie manifestujących się jako hipo- lub hiperpigmentacja skóry leczenie tej grupy schorzeń jest skomplikowane i nie zawsze skuteczne. Wymaga zazwyczaj długotrwałego postępowania, stosowania kilku metod leczniczych obejmujących zabiegi chirurgiczne, laseroterapię, dermabrazję oraz farmakoterapię miejscową [10].

Nowe kierunki leczenia zaburzeń barwnikowych obejmują aplikacje hodowanych *in vitro* autologicznych melanocytów [5, 13, 14] oraz stosowanie immunomodulatorów [5]. Dąży się także to zdefiniowania skuteczniejszych substancji depigmentacyjnych [5].

Niestety, u wielu chorych nie udaje się uzyskać całkowitego ustąpienia zmian.

Piśmiennictwo

1. **Bystryn J.C.**: Immune mechanism in vitiligo. *Clinics in Dermatology* 1997, 15, 853.
2. **Bystryn J.C., Naughton G.K.**: The significance of vitiligo antibodies. *J. Dermatol.* 1985, 12, 1.
3. **Caixia T., Hongwen F., Xiran L.**: Levels of soluble interleukin-2 receptor in the sera and skin tissue fluids of patients with vitiligo. *J. Dermatol. Sci.* 1999, 21, 59.
4. **Costin G.E., Valencia J.C., Vieira W.D. et al.**: Tyrosinase processing and intracellular trafficking is disrupted in mouse primary melanocytes carrying the underwhite (uw) mutation. A model for oculo-cutaneous albinism (OCA) type 4. *J. Cell. Sci.* 2003, 116, 3203.
5. **Czajkowski R.**: Comparison of melanocytes transplantation methods for the treatment of vitiligo. *Dermatologic Surgery* 2004, 30, 1400.
6. **Das P.K., van den Wijngaard R.M., Wankowicz-Kalinska A. et al.**: A symbiotic concept of auto-immunity and tumor immunity: lessons from vitiligo. *Trends in Immunology* 2001, 22, 130.
7. **Duval C., Smit N.P., Kolb A.M. et al.**: Keratinocytes control the pheo/eumelanin ratio in cultured normal human melanocytes. *Pigment Cell Research* 2002, 15, 440.
8. **Hearing V.J.**: Biogenesis of pigment granules: a sensitive way to regulate melanocyte function. *Journal of Dermatological Science* 2005, 37, 3.
9. **Imokawa G.**: Autocrine and paracrine regulation of melanocytes in human skin and in pigmentary disorders. *Pigment Cell Research* 2004, 17, 96.
10. **Kemp E.H., Waterman E.A., Weetman A.P.**: Immunological pathomechanisms in vitiligo. *Cambridge University Press* 2001, 1.
11. **Kitamura R., Tsukamoto K., Harada K. et al.**: Mechanisms underlying the dysfunction of melanocytes in vitiligo epidermis: role of SCF/KIT protein Interactions and the downstream effector, MITF-M. *Journal of Pathology* 2004, 202, 463.
12. **Li G., Herlyn M. et al.**: Dynamics of intracellular communication during melanoma development. *Molecular Medicine Today* 2000, 6, 163.
13. **Mulekar S.V.**: Melanocyte-keratinocyte cell transplantation for stable vitiligo. *International Journal of Dermatology* 2003, 42, 132.
14. **Mulekar S.V.**: Long-term follow-up study of segmental and focal vitiligo treated by autologous, non-cultured melanocyte-keratinocyte cell transplantation. *Arch. Dermatol.* 2004, 140, 1211.
15. **Naughton G.K., Eisinger M., Bystryn J.C.**: Antibodies to normal human melanocytes in vitiligo. *J. Exp. Med.* 1983, 158, 251.
16. **Norris D.A., Kissinger R.M., Naughton G.M. et al.**: Evidence for immunologic mechanisms in human vitiligo: patients' sera induce damage to human melanocytes in vitro by complement-mediated damage and antibody-dependent cellular cytotoxicity. *J. Invest. Dermatol.* 1998, 90, 783.
17. **Riley P.A.**: Tyrosinase kinetics: a semi-quantitative model of the mechanism of the mechanism of oxidation of monohydric and dihydric phenolic substrates. *J. Theor. Biol.* 2000, 203, 1.
18. **Rouabhia M.**: Skin Substitute Production by tissue Engineering; Chapter 1: Structural and Functional Complexity of Skin. *R.G. Landes company.* 1997, 3-22.
19. **Toyofuku K., Valencia J.C., Kushimoto T. et al.**: The etiology of oculocutaneous albinism (OCA) type II: the pink protein modulates the processing and transport of tyrosinase. *Pigment Cell Res.* 2002, 15, 217. Erratum in: *Pigment. Cell. Res.* 2002, 15, 400.
20. **Toyofuku K., Wada I., Valencia J.C. et al.**: Oculocutaneous albinism types 1 and 3 are ER retention diseases: mutation of tyrosinase or Tyrp1 can affect the processing of both mutant and wild-type proteins. *FASEB J.* 2001, 15, 2149.
21. **Vincensi M.R., d'Ischia M., Napolitano A. et al.**: Pheomelanin versus eumelanin as a chemical indicator of ultraviolet sensitivity in fair-skinned subjects at high risk for melanoma: a pilot study. *Melanoma research* 1998, 8, 53.
22. **Wenczl E., Van der Schans G.P., Roza L. et al.**: (Pheo)melanin photosensitizes UVA-induced DNA damage in cultured human melanocytes. *J. Invest. Dermatol.* 1998, 111, 678.
23. **Yamaguchi Y., Itami S., Watabe H. et al.**: Mesenchymal-epithelial interactions in the skin: increased expression of dickkopf1 by palmoplantar fibroblasts inhibits melanocyte growth and differentiation. *The Journal of Cell Biology* 2004, 165, 275.
24. **Yu H.S., Chang K.L., Yu C.L. et al.**: Alterations in IL-6, IL-8, GM-CSF, TNF-alpha, and IFN-gamma release by peripheral mononuclear cells in patients with active vitiligo. *J. Invest. Dermatol.* 1997, 108, 527.