

УДК 616-092

# Механизмы действия препаратов на основе цинка для лечения атопического дерматита и других заболеваний кожи

Кандалова О.В.<sup>1</sup>, Ключникова Д.Е.<sup>1</sup>, Елистратова И.В.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

<sup>3</sup> Федеральное государственное казённое учреждение здравоохранения «Главный военный клинический госпиталь войск национальной гвардии Российской Федерации».

143914, Московская обл., Балашиха, Вишняковское ш. (микрорайон Никольско-Архангельский), вл. 101

**Цель работы** – изучить влияние препаратов цинка на уровень экспрессии белков, ассоциированных со стрессом, в лимфоцитах крови больных атопическим дерматитом (АД) в зависимости от уровня цинка в сыворотке крови.

**Методы.** Кровь брали натощак. Определяли концентрацию цинка в сыворотке крови методом абсорбционной спектроскопии. Лимфоциты выделяли на градиенте плотности Фиколла-Верографина и окрашивали моноклональными антителами ко внутриклеточным белкам. Интенсивность флуоресценции измеряли на проточном цитометре FACSCalibur по программе SimulSet. Статистический анализ проводили по программе «Биостатистика».

**Результаты.** Показано влияние исходной концентрации цинка в сыворотке крови на показатели сигнальных белков в лимфоцитах. При дефиците цинка уровень ингибитора клеточного цикла p21 в лимфоцитах повышен, а терапия цинк пиритионом снижает уровень экспрессии p21. При дефиците цинка в сыворотке крови больных АД уровень экспрессии белков киназ p38 и JNK был повышен по сравнению с показателями лиц без дефицита цинка, и снижался после применения цинк пиритиона у больных АД. При дефиците цинка у больных АД была повышена экспрессия молекулярных шаперонов DNAJA3, DNAJB6 и DNAJC15 в лимфоцитах. Применение цинк пиритиона снижает экспрессию этих стрессовых белков.

**Заключение.** Дефицит цинка в сыворотке крови больных АД сопряжен с развитием стресса в лимфоцитах периферической крови больных. Добавление цинк пиритиона снижает уровень экспрессии стресс-зависимых белков в лимфоцитах крови больных АД.

**Ключевые слова:** атопический дерматит; цинк; сыворотка крови; лимфоциты; стресс.

**Для цитирования:** Кандалова О.В., Ключникова Д.Е., Елистратова И.В. Механизмы действия препаратов на основе цинка для лечения атопического дерматита и других заболеваний кожи. *Патогенез*. 2021; 19(4): 67-74.

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2021.04.67-74

**Для корреспонденции:** Кандалова Ольга Вадимовна, e-mail: olga\_kandalova@inbox.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 10.12.2021

## Zinc-based treatment of atopic dermatitis and other skin diseases

Kandalova O.V.<sup>1</sup>, Klyuchnikova D.E.<sup>1</sup>, Elistratova I.V.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Delegatskaya St. 20, Bldg. 1, Moscow 127473, Russian Federation

<sup>2</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya St. 8, Moscow 125315, Russian Federation

<sup>3</sup> Main Military Clinical Hospital of the National Guard of the Russian Federation, Vishnyakovskoe Shosse 101 (Microdistrict Nikolsko-Arkhangelsky), Balashikha of Moscow Region 143914, Russian Federation

**The aim of the work** was to study the effect of zinc pyrithione and zinc oxide on stress-associated protein expression in blood lymphocytes of patients with atopic dermatitis (AD) depending on the serum concentration of zinc.

**Methods.** Blood was collected in fasting state. Blood concentration of zinc was determined by absorption spectroscopy. Lymphocytes were isolated by the Ficoll/verografin density gradient centrifugation and stained with monoclonal antibodies to intracellular proteins. The fluorescence intensity was measured on a FACSCalibur flow cytometer using the SimulSet software. Statistical analysis was performed using the Biostatistic software.

**Results.** The study showed the effect of zinc serum concentration at baseline on stress-dependent proteins in lymphocytes. In zinc deficiency, the content of cell cycle inhibitor p21 in lymphocytes was increased whereas the zinc pyrithione treatment reduced the p21 expression. Serum zinc deficiency in patients with AD was associated with increased expression of kinase proteins p38 and JNK compared to patients without zinc deficiency; in patients with AD, the kinase protein expression decreased after administration of zinc pyrithione. In AD patients with zinc deficiency, the lymphocyte expression of the DNAJA3, DNAJB6 and DNAJC15 molecular chaperones was increased. The zinc pyrithione treatment restricted the expression of these stress proteins.

**Conclusions.** Serum zinc deficiency in patients with AD is associated with the development of stress in peripheral blood lymphocytes. The zinc pyrithione treatment restricts the expression of stress-dependent proteins in lymphocytes of patients with AD.

**Key words:** atopic dermatitis; zinc; serum; lymphocytes; stress.

**For citation:** Kandalova O.V., Klyuchnikova D.E., Elistratova I.V. [Zinc-based treatment of atopic dermatitis and other skin diseases]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2021; 19(4): 67-74. (in Russian)

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2021.04.67-74

**For correspondence:** Kandalova Olga Vadimovna, e-mail: olga\_kandalova@inbox.ru

**Funding.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received:** 10.12.2021

## Введение

Микроэлемент цинк находится в клетках в виде двухвалентных ионов и ассоциирован примерно с 10% белков человека [1]. G-протеин сопряженные рецепторы участвуют в распознавании экстраклеточного цинка и в обмене цинка в клетках. Цинк необходим для поддержания физиологических процессов в организме, он является кофактором ферментов и белков, регулирующих эпигенетические процессы, фолдинг и сборку белков, рост и дифференцировку клеток, апоптоз, цинк взаимодействует с факторами транскрипции. Белки связывают цинк через гистидиновые, цистеиновые или глутамат/аспартатные аминокислотные остатки [2]. Цинк играет роль в изменении активности защитных механизмов при стрессе [3]. Экстраклеточный цинк связывается с рецепторами на клетках и регулирует их активность. Эндогенный цинк работает как вторичный мессенджер и запускает сигнализацию внутриклеточного кальция. В этот сигнальный путь выживания и пролиферации клеток кожи входят киназы ERK1/2, MAPK p38, PI3K, AKT и т.д. [4].

Цинк оказывает влияние на дифференцировку, пролиферацию и функциональную активность клеток иммунной системы за счет изменения сигнальных путей. Цинк может изменять уровень регуляторных Т-клеток (T-reg), а также подавлять экспрессию провоспалительных цитокинов и молекул адгезии на клетках [5]. Добавление цинка в рацион питания взрослых людей активизирует Т-лимфоциты человека, в частности CD4<sup>+</sup> клетки [6].

Дефицит цинка может быть следствием генетических нарушений, или определяется алиментарными факторами и связан с заболеваниями кожи. Недостаток цинка ассоциирован с повышением активности каспазы-3 и активации апоптоза в клетках кожи, что приводит к истончению эпидермиса и инфекционным поражениям кожи.

Дефицит цинка или нарушение функциональной активности транспортера цинка ZIP10 играет роль в патогенезе атопического дерматита (АД) [7]. Дефицит цинка усиливает тяжесть клинического течения АД, а также обуславливает отсутствие эффекта от применения стандартной терапии для АД [8]. Показано снижение уровня цинка в эритроцитах при повышении индекса SCORAD у пациентов с АД [5]. При этом уровень

цинка в сыворотке крови не коррелировал с повышением тяжести АД [9]. Также у пациентов с АД отмечается снижение концентрации цинка в волосах по сравнению со здоровыми донорами. Дефицит цинка при АД способствует активации воспалительных процессов [10], тогда как добавление цинка в рацион питания существенно улучшает состояние пациентов при тяжелом течении АД по индексу SCORAD [11], улучшает метаболические показатели крови, способствует прекращению воспалительных процессов при АД [12], приводит к снижению уровня провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-6 [6].

Цинк применяется в эмульсиях, кремах, мазях, которые назначаются для наружного применения при АД. Цинк играет ведущую роль в поддержании барьерной функции кожи. Ежедневное использование кремов и других препаратов на основе цинка в течение месяца улучшает показатели барьерной функции кожи у пациентов с АД. Средства для мытья кожи с цинком (цинк пиритион) способствуют улучшению состояния кожи пациентов с АД через 4 недели применения. Нанесение цинка в составе мазей оказывает противовоспалительный и антибактериальный эффект при АД [13]. Ламеллярный гидратированный оксид цинка с витамином С снижает инфильтрацию воспалительных клеток в дерме, гиперплазию эпидермиса, снижает гиперкератоз. На молекулярном уровне снижается уровень IL-1b, IL-6, IL-17A, IL-22, TNF в сыворотке крови, снижается экспрессия MAPK киназ ERK и p38, ингибируется фосфорилирование ядерного фактора транскрипции NF-kb p65 [14]. Лечение препаратами цинка в течение 8 недель обуславливало достоверное повышение уровня цинка в волосах [15].

Пропитанный оксидом цинка текстиль применяется у пациентов с АД, ношение такой одежды положительно влияет на самочувствие пациентов с АД, уменьшает чувство зуда, улучшается сон. На клеточном уровне показано влияние на окислительный стресс, также снижается уровень бактериальной контаминации [16].

Целью работы является изучение влияния препаратов, содержащих цинк (цинк пиритион и оксид цинка), на уровень экспрессии сигнальных белков, ассоциированных со стрессом, в лимфоцитах периферической крови больных атопическим дерматитом в зависимости от уровня цинка в сыворотке крови.

## Материалы и методы исследования

### Пациенты

В работе представлены результаты обследования и лечения 96 больных атопическим дерматитом (средняя степень тяжести, индекс SCORAD 20–40, все мужчины в возрасте от 18 до 48 лет), проходившие лечение на клинической базе кафедры дерматологии и венерологии МГМСУ. Донорами были 32 здоровых мужчины (от 18 до 36 лет), проходившие обследование в госпитале войск национальной гвардии для зачисления на службу, все участвовали в проведении данного исследования добровольно. Все пациенты и доноры подписывали форму информированного согласия, утвержденную Ученым Советом МГМСУ и одобренную дирекцией госпиталя. Критериями исключения из исследования были: наличие острых вирусных или бактериальных инфекций, системных заболеваний, верифицированного онкологического заболевания или другой соматической патологии, которая могла бы оказать влияние на исследуемые показатели.

Все пациенты с АД были обследованы до начала лечения и через 3 недели после назначения препаратов, содержащих цинк. В данном исследовании использованы два вида цинка в препаратах для местного лечения АД – это активированный цинк пиритион в составе крема от АД (коммерческое название не приводится), а также оксид цинка, который входит в состав цинковой мази, салицилово-цинковой пасты (паста Лассара) и других препаратов.

Группами сравнения были пациенты с АД и доноры, а также пациенты с АД, имеющие верифицированный дефицит цинка в сыворотке крови и пациенты с АД, имеющие нормальный уровень цинка в крови.

### Работа с кровью

Работа с кровью людей проводилась согласно требованиям ГОСТов и международным правилам работы с биологическим материалом. Кровь брали из локтевой вены строго натощак утром в одно и то же время для исключения временных колебаний в показателях крови. За сутки до взятия крови запрещалось курение, использование сауны или парилки. После центрифугирования пробирки с кровью открывали в боксе для исключения контакта лаборанта с биологическим материалом. Концентрация цинка в сыворотке крови определялась методом атомно-абсорбционной спектроскопии на аппарате Shimadzu AA-670 (Shimadzu, Япония) (<http://www.ssi.shimadzu.com>).

Для получения мононуклеаров крови осадок разводили фосфатным буфером (PBS) 1:1 и по 2 мл наслаивали на градиент плотности Фиколла-Верографи на (1,078 г/л), центрифугировали 20 мин при ускорении 2000 g при комнатной температуре. Мононуклеары отбирали из интерфазы, отмывали средой RPMI-1640 и доводили до концентрации  $1 \times 10^6$  клеток/мл.

### Окраска антителами ко внутриклеточным белкам

Для окраски использовали моноклональные антитела (mAb), меченные напрямую флуоресцентными красителями (Santa Cruz Biotechnology). Перед окраской клетки 20 мин фиксировали в 4% параформальдегиде с 0,001% Тритоном X-100, затем отмывали в PBS, доводили до концентрации  $0,5 \times 10^6$  клеток в 50 мкл, добавляли 20 мкл соответствующих mAb и инкубировали 40 мин при  $t^{\circ} + 4^{\circ}\text{C}$ . Клетки отмывали, осадок встряхивали и фиксировали в 2% параформальдегиде на PBS.

### Проточная цитометрия

Клетки, окрашенные mAb, анализировали на проточном цитометре FACSCalibur (Becton Dickinson, США) по программе SimulSet с оптимальными настройками, неизменяемыми при повторных измерениях. Использовали методику, ранее описанную нами [17]. Первичный анализ клеток проводили в системе координат на каналах FSC-A/SSC-A (Forward Scate Cells & Side Scate Cells). В каждом образце анализировалось 10 тысяч событий на гейт одной популяции клеток, который устанавливали автоматически по прилагаемой программе. Интенсивность флуоресценции mAb, меченных FITC, определяли на канале FL1 при длине волны  $530 \pm 5$  нм, флуоресценцию фикоэритрина измеряли на канале FL2 при длине волны  $585 \pm 5$  нм. Интенсивность флуоресценции приводилась ко внутреннему стандарту. В качестве негативного контроля регистрировалась флуоресценция  $F(ab')_2$  фрагментов изотип-специфичных иммуноглобулинов, меченных соответствующими красителями, но без первичных антител. Далее анализировалась гистограмма, соответствующая распределению клеток на канале, по которой определяли процентное содержание антиген-положительных клеток и интенсивность флуоресценции (mean) в условных единицах, отражающую уровень включения флуоресцентной метки в клетку.

### Статистический анализ

Полученные данные статистически обработаны по программе «Биостатистика». Сравнение между двумя группами проводили по парному критерию Стьюдента, данные представлены как  $M \pm m$ ,  $p \leq 0,05$  дается как статистически значимое различие между группами.

## Результаты исследования

### Определение концентрации цинка в сыворотке крови

Для участия в данной работе были отобраны пациенты с АД средней степени тяжести (индекс SCORAD 20–40 единиц). Всем участникам был измерен уровень цинка в сыворотке крови натощак: для доноров ( $n = 32$ ) этот показатель составил, в среднем,  $16,34 \pm 1,02$  мкмоль/л, у больных АД ( $n = 96$ ) он составил  $11,89 \pm 1,21$  мкмоль/л ( $p < 0,05$ ), что статистически значимо отличается от показателей здоровых людей. Так как норма для цинка

в сыворотке составляет от 10,09 до 16,82 мкмоль/л [18], то следующим этапом исследования было выделение группы пациентов с АД, у которых показатели цинка в крови составляли <10,09 мкмоль/л. Таких пациентов было 54 человека (~56%), средний уровень цинка в сыворотке крови у них составил  $8,96 \pm 0,44$  мкмоль/л. У 42 пациентов с АД (~44%), уровень цинка в сыворотке крови был нормальный и составлял  $15,02 \pm 1,04$  мкмоль/л.

Далее мы разделили пациентов с АД рандомизировано на 4 группы: по 21 пациенту с нормальным уровнем цинка и по 27 пациентов со сниженным уровнем цинка в сыворотке крови. Одна группа получала топически цинк пиритион (как действующее вещество) в течение 3 недель, другая половина больных получала топически окись цинка в виде мази в течение 3 недель. Доноры не получали никакой терапии и сдавали кровь однократно. У всех были измерены показатели клеточных белков, данные представлены далее в таблицах.

#### Влияние цинка на экспрессию белков, регулирующих клеточный цикл

Фазовые переходы клеточного цикла зависят от активности негативных и позитивных регуляторов, циклинов, циклин-зависимых киназ и т.д. Белок p21 является негативным регулятором клеточного цикла, его роль показана при развитии стресса в клетках, а также при дефиците цинка [19]. По нашим данным у больных АД с верифицированным дефицитом цинка уровень белка p21 был достоверно повышен, это не соответствует данными других авторов, но вполне согласуется с сопряжением белка p21 с развитием стресса в клетках. Добавление цинк пиритиона снижает уровень экспрессии белка p21 при исходном дефиците цинка в крови. Это согласуется с данными о влиянии цинка на пролиферацию клеток, так как снижение экспрессии негативного регулятора фазовых переходов клеточного цикла может способствовать активации пролиферации клеток. Однако

у больных АД с нормальным уровнем цинка в крови лечение препаратами цинк пиритиона достоверно повышает уровень экспрессии белка p21 (Табл. 1).

Белок гена ретинобластомы (Rb протеин (Rb-p)) регулирует фазовые переходы клеточного цикла. Мы не обнаружили различий в экспрессии этого белка между пациентами с АД и донорами, а также при дефиците цинка, хотя подобные изменения можно было ожидать в связи с влиянием цинка на пролиферацию клеток (табл. 1).

#### Влияние препаратов цинка на экспрессию белков стресс-зависимых киназ

Нами было установлено, что использование препаратов цинка оказывает влияние на экспрессию белков сигнальных путей, сопряженных со стрессом – это MAPK p38 (p38 mitogen-activated protein kinase), JNK (c-Jun N-terminal kinase) и ERK1/2 (Extracellular signal-regulated kinases 1 and 2) [20]. При дефиците цинка в сыворотке крови больных АД уровень экспрессии белков киназ p38 и JNK достоверно повышен по сравнению с показателями доноров и больных АД без дефицита цинка (табл. 2). При этом уровень белка киназы ERK1/2 не зависел от уровня цинка в сыворотке крови. Это отражает состояние хронического стресса, характерное для дефицита цинка в организме [4].

Уровень экспрессии белка MAPK киназы p38 значимо ( $p < 0,05$ ) снижался после применения цинк пиритиона у всех больных АД, при этом окись цинка не оказывала влияния на уровень этого белка (табл. 2). Экспрессия киназы JNK была достоверно выше у больных АД с дефицитом цинка, и её экспрессия снижалась после 3-недельного применения цинк пиритиона у больных АД с исходным дефицитом цинка (табл. 2).

Каких-либо изменений в экспрессии киназы ERK1/2 у больных АД до лечения по сравнению с донорами выявлено не было. Применение препаратов цинка у больных АД с исходным верифицированным дефици-

Таблица 1

Экспрессия белков – регуляторов клеточного цикла в лимфоцитах периферической крови здоровых доноров и больных атопическим дерматитом (АД) в зависимости от применения препаратов цинка (в условных единицах (*mean\**) по данным проточной цитометрии)

Белки – регуляторы клеточного цикла	Доноры (n = 32)	Пациенты АД, средняя степень тяжести (SCORAD 20–40)			
		Цинк $8,96 \pm 0,44$ мкмоль/л		Цинк $15,02 \pm 1,04$ мкмоль/л	
		Цинк пиритион (n = 27)	Окись цинка (n = 27)	Цинк пиритион (n = 21)	Окись цинка (n = 21)
		До лечения			
p21	$86 \pm 5$	$125 \pm 6$	$123 \pm 7$	$92 \pm 9$	$95 \pm 8$
Rb-p**	$212 \pm 9$	$228 \pm 7$	$230 \pm 8$	$209 \pm 11$	$211 \pm 9$
		После лечения			
p21	$86 \pm 5$	$107 \pm 5 \#$	$114 \pm 7$	$124 \pm 7 \#$	$104 \pm 8$
Rb-p**	$212 \pm 9$	$220 \pm 8$	$226 \pm 10$	$215 \pm 12$	$218 \pm 8$

Примечания: \*Mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах); \*\* Rb-p – белок гена ретинобластомы (регулятор клеточного цикла); #  $p < 0,05$  по сравнению с данными до лечения в соответствующей группе больных АД.

том цинка в сыворотке крови обуславливало достоверное ( $p < 0,05$ ) повышение уровня экспрессии белка киназы ERK1/2 (Табл. 2).

#### Влияние препаратов цинка на стресс-зависимые белки

Далее было установлено, что использование препаратов, содержащих цинк пиритион, в течение 3 недель у больных АД оказывает влияние на стресс-зависимые белки в лимфоцитах (табл. 3). Нами были измерены уровни экспрессии стресс-зависимых белков, которые ранее были исследованы в лимфоцитах пациентов с АД, это DNAJA3/Tid1 [21], DNAJB6/MRJ [22] и DNAJC15/MCJ MRJ [23].

В данной работе было установлено, что дефицит цинка оказывает влияние на экспрессию белков стресса DNAJA3, DNAJB6 и DNAJC15 в лимфоцитах больных АД (Табл. 3), то есть при верифицированном дефиците цинка уровень экспрессии изучаемых белков досто-

верно повышен по сравнению с показателями больных АД, у которых концентрация цинка в сыворотке крови нормальная.

Препараты, в состав которых входит цинк пиритион, оказывают более выраженное влияние на изучаемые белки, тогда как препараты окиси цинка в виде мазей менее активны в плане влияния на экспрессию изучаемых стресс-зависимых белков, хотя оба препарата обуславливают снижение уровня белков стресса в лимфоцитах. Для белка DNAJA3 показано достоверное снижение экспрессии в лимфоцитах крови после 3-недельного топического применения как цинк пиритиона, так и окиси цинка. При этом окись цинка не оказывала достоверного влияния на экспрессию белка DNAJB6, но при этом была тенденция к его снижению в лимфоцитах периферической крови (табл 3).

Для белка DNAJC15 показано, что применение окиси цинка достоверно не снижает его экспрессию в лим-

Таблица 2

Экспрессия белков протеинкиназ в лимфоцитах периферической крови здоровых доноров и больных атопическим дерматитом (АД) в зависимости от применения препаратов цинка (в условных единицах (*mean*\*) по данным проточной цитометрии)

Протеин-киназы сигнальных путей	Доноры (n = 32)	Пациенты АД, средняя степень тяжести (SCORAD 20–40)			
		Цинк 8,96 ± 0,44 мкмоль/л		Цинк 15,02 ± 1,04 мкмоль/л	
		Цинк пиритион (n = 27)	Окись цинка (n = 27)	Цинк пиритион (n = 21)	Окись цинка (n = 21)
		До лечения			
p38	81 ± 4	129 ± 6	131 ± 5	108 ± 4	111 ± 4
JNK	124 ± 8	152 ± 8	153 ± 7	137 ± 5	135 ± 6
ERK1/2	119 ± 10	111 ± 8	112 ± 6	115 ± 7	118 ± 9
		После лечения			
p38	81 ± 4	113 ± 6 #	125 ± 6	92 ± 5 #	104 ± 6
JNK	124 ± 8	131 ± 6 #	142 ± 8	123 ± 7	129 ± 8
ERK1/2	119 ± 10	131 ± 7 #	128 ± 6 #	117 ± 5	121 ± 5

Примечания: \*Mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах); #  $p < 0,05$  по сравнению с данными до лечения в соответствующей группе больных АД.

Таблица 3

Экспрессия стресс-зависимых белков в лимфоцитах периферической крови здоровых доноров и больных атопическим дерматитом (АД) в зависимости от применения препаратов цинка (в условных единицах (*mean*\*) по данным проточной цитометрии).

Стресс-зависимые белки	Доноры (n = 32)	Пациенты АД, средняя степень тяжести (SCORAD 20–40)			
		Цинк 8,96 ± 0,44 мкмоль/л		Цинк 15,02 ± 1,04 мкмоль/л	
		Цинк пиритион (n = 27)	Окись цинка (n = 27)	Цинк пиритион (n = 21)	Окись цинка (n = 21)
		До лечения			
DNAJA3	155 ± 12	255 ± 8	251 ± 11	211 ± 9	216 ± 10
DNAJB6	48 ± 5	92 ± 6	89 ± 5	71 ± 3	72 ± 4
DNAJC15	55 ± 4	93 ± 3	91 ± 5	70 ± 4	72 ± 3
		После лечения			
DNAJA3	155 ± 19	208 ± 21 #	229 ± 12 #	175 ± 7 #	192 ± 8 #
DNAJB6	48 ± 5	77 ± 5 #	80 ± 4	56 ± 3 #	64 ± 4
DNAJC15	55 ± 4	72 ± 5 #	73 ± 5 #	60 ± 3 #	65 ± 4

Примечания: \*Mean – интенсивность флуоресценции (в условных единицах); #  $p < 0,05$  по сравнению с данными до лечения в соответствующей группе больных АД.

фоцитах при нормальном уровне цинка в сыворотке крови, хотя тенденция к снижению имеется. При верифицированном дефиците цинка уровень экспрессии белка DNAJC15 достоверно выше по сравнению с больными АД, имеющими нормальный уровень цинка в крови, при этом применение препаратов цинка оказывает достоверное ингибирующее влияние на экспрессию белка DNAJC15 в лимфоцитах крови (табл 3). Следует отметить, что уровень экспрессии DNAJC15 после лечения выше в лимфоцитах больных АД, имеющих исходно низкий уровень цинка в сыворотке крови.

### Обсуждение

Известно, что в основе патогенеза АД лежит стресс [24], поэтому в данной работе были исследованы некоторые белки, сопряженные со стрессом. Дефицит цинка является фактором, влияющим на барьерную функцию кожи, а также на проведение сигналов стресса в клетках организма человека [25]. Поэтому мы проанализировали показатели экспрессии стрессовых белков при дефиците цинка в сыворотке крови больных АД.

По данным литературы около 26% пациентов, находящихся в различных отделениях в клинике внутренних болезней, имеют дефицит цинка [18]. По нашим данным дефицит цинка в сыворотке крови обнаружен у 56% больных с АД.

Из литературных источников известно, что добавление цинка в рацион человека повышает пролиферативную активность клеток. В связи с этим мы измерили уровень экспрессии регуляторов клеточного цикла: белка гена ретиноластомы Rb-p и ингибитора p21. Известно, что повышение экспрессии негативного регулятора клеточного цикла белка p21 сопряжено со стрессовым фенотипом клеток [19], поэтому уровень экспрессии этого белка был измерен в зависимости от уровня цинка в сыворотке крови больных АД. В данном исследовании мы не выявили каких-либо достоверных изменений Rb протеина в зависимости от уровня цинка в сыворотке крови.

Было показано, что при исходном дефиците цинка уровень белка p21 в лимфоцитах крови повышен, а терапия препаратами, содержащими цинк пиритион снижает уровень экспрессии p21. Это согласуется с данными о влиянии цинка на пролиферацию клеток, так как снижение экспрессии негативного регулятора фазовых переходов клеточного цикла может способствовать активации пролиферации клеток. При этом у пациентов с АД, имеющим исходно нормальный уровень цинка в крови, цинк пиритион повышал уровень экспрессии белка p21 в лимфоцитах. Это указывает на разные уровни сопряжения цинка с белками клеточного цикла в зависимости от концентрации цинка в сыворотке крови.

Мы установили, что при дефиците цинка в крови в лимфоцитах повышена активность киназ, сопряженных с сигнальными путями стресса. Повышение экспрессии киназ p38 и JNK при нормальном уровне

экспрессии киназы ERK1/2 указывает на состояние хронического стресса в лимфоцитах больных АД с дефицитом цинка.

В следующем разделе работы нами были измерены уровни экспрессии стресс-зависимых белков, которые ранее были исследованы в лимфоцитах пациентов с АД, это DNAJA3/Tid1 [21], DNAJB6/MRJ [22] и DNAJC15/MCJ [23]. Ранее было показано, что по сравнению со здоровыми донорами экспрессия белка DNAJA3/Tid1 в Th2 клетках значимо повышена при лёгкой и средней степени тяжести АД [21]. Нами установлено снижение экспрессии белка DNAJA3 в лимфоцитах крови после 3-недельного топического применения как цинк пиритиона, так и окиси цинка. В данной работе показано, что цинк пиритион снижает экспрессию белка DNAJB6, при этом окись цинка показывала только тенденцию к снижению DNAJB6 в лимфоцитах периферической крови при АД.

Как было выявлено ранее, экспрессия молекулярного шаперона DNAJC15/MCJ повышена в CD8<sup>+</sup> цитотоксических лимфоцитах периферической крови больных атопическим дерматитом по сравнению со здоровыми донорами [24]. Мы установили, что при дефиците цинка у больных АД уровень экспрессии белка DNAJC15 значимо выше по сравнению с больными АД, имеющими нормальный уровень цинка в крови, при этом применение препаратов цинка оказывает ингибирующее влияние на экспрессию белка DNAJC15 в лимфоцитах крови.

Таким образом, нами показано, что дефицит микроэлемента цинка в сыворотке крови больных АД сопряжен с развитием стресса в лимфоцитах периферической крови.

### Выводы

1. Дефицит цинка в сыворотке крови больных атопическим дерматитом сопряжен с развитием стресса в лимфоцитах периферической крови больных АД.
2. Добавление цинк пиритиона снижает уровень экспрессии ингибитора клеточного цикла белка p21 при исходном дефиците цинка у больных АД.
3. В лимфоцитах крови больных АД повышена экспрессия протеинкиназ, регулирующих сигнальные пути стресса.
4. Активность молекулярных шаперонов DNAJA3, DNAJB6 и DNAJC15 повышена в лимфоцитах крови при дефиците цинка при АД и снижается после применения цинк пиритиона.

### Список литературы

1. Yusuf A., Abubakar M., Malami I., Ibrahim K., Abubakar B., Bello M., Qusty N., Elazab S., Imam M., Alexiou A., Batiha G. Zinc metalloproteins in epigenetics and their crosstalk. *Life (Basel)*. 2021; 11(3): 186–195. DOI: 10.3390/life11030186.
2. Bartas M., Červeň J., Guziurová S., Slychko K., Pečinka P. Amino acid composition in various types of nucleic acid-binding proteins. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(2): 922–936. DOI: 10.3390/ijms22020922

3. Акмаев Э.Г., Александров А.С., Алчинова И.Б., Бочаров Е.В., Карганов М.Ю., Крыжановский Г.Н., Кучеряну В.Г., Магаева С.В., Морозов С.Г., Носкин Л.А., Панфилов Д.Н., Пшеникова М.Г., Сарманаев С.Х., Сепиашвили Р.И., Сюч Н.И., Фисун А.А., Чувин Б.Т. *Санология*. Под ред. Кубатиева А.А., Симоненко В.Б. М: Наука, 2014, 285 с.
4. Hershinkel M. The zinc sensing receptor, ZnR/GPR39, in health and disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(2):439–445. DOI: 10.3390/ijms19020439
5. Kanda N., Hoashi T., Saeki H. Nutrition and atopic dermatitis. *J. Nippon Med. Sch.* 2021; 88(3): 171–177. DOI: 10.1272/jnms.JNMS.2021\_88-317
6. Jafari A., Noormohammadi Z., Askari M., Daneshzad E. Zinc supplementation and immune factors in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2020: 1–19. DOI: 10.1080/10408398.2020.1862048
7. Nakajima K., Lee M., Bin B., Hara T., Takagishi T., Chae S., Sano S., Fukada T. Possible involvement of zinc transporter ZIP10 in atopic dermatitis. *J. Dermatol.* 2020; 47(2): e51–e53. DOI: 10.1111/1346-8138.15190
8. Mohammed J., Mehrotra S., Schulz H., Lim R. Severe infant rash resistant to therapy due to zinc deficiency. *Pediatr. Emerg. Care.* 2017; 33(8): 582–584. DOI: 10.1097/PEC.0000000000001218
9. Karabacak E., Aydin E., Kutlu A., Ozcan O., Muftuoglu T., Gunes A., Dogan B., Ozturk S. Erythrocyte zinc level in patients with atopic dermatitis and its relation to SCORAD index. *Postepy Dermatol. Alergol.* 2016; 33(5): 349–352. DOI: 10.5114/ada.2016.62841
10. Suzuki M., Suzuki T., Watanabe M., Hatakeyama S., Kimura S., Nakazono A., Honma A., Nakamaru Y., Vreugde S., Homma A. Role of intracellular zinc in molecular and cellular function in allergic inflammatory diseases. *Allergol. Int.* 2021; 70(2): 190–200. DOI: 10.1016/j.alit.2020.09.007
11. Gray N., Dhana A., Stein D., Khumalo N. Zinc and atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2019; 33(6): 1042–1050. DOI: 10.1111/jdv.15524
12. Dhaliwal S., Nguyen M., Vaughn A., Notay M., Chambers C., Sivamani R. Effects of zinc supplementation on inflammatory skin diseases: A systematic review of the clinical evidence. *Am. J. Clin. Dermatol.* 2020; 21(1): 21–39. DOI: 10.1007/s40257-019-00484-0
13. Maarouf M., Vaughn A., Shi V. Topical micronutrients in atopic dermatitis: An evidence-based review. *Dermatol. Ther.* 2018; 31(5): e12659. DOI: 10.1111/dth.12659
14. Lee J., Jeon Y., Choi J., Kim H., Kim T. Effects of VitabridC12 on skin inflammation. *Ann. Dermatol.* 2017; 29(5): 548–558. DOI: 10.5021/ad.2017.29.5.548
15. Kim J., Yoo S., Jeong M., Ko J., Ro Y. Hair zinc levels and the efficacy of oral zinc supplementation in patients with atopic dermatitis. *Acta Derm. Venereol.* 2014; 94(5): 558–562. DOI: 10.2340/00015555-1772
16. Wiegand C., Hipler U., Boldt S., Strehle J., Wollina U. Skin-protective effects of a zinc oxide-functionalized textile and its relevance for atopic dermatitis. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* 2013; 6: 115–111. DOI: 10.2147/CCID.S44865
17. Кандалова О.В., Таратугина Т.В., Мартынова Е.А. Сравнение спонтанного и церамид-индуцированного апоптоза в клетках кожи больных atopическим дерматитом, экземой и псориазом. *Патогенез*. 2012; 10(4): 60–65.
18. Gau J., Ebersbacher C., Kao T. Serum zinc concentrations of adults in an outpatient clinic and risk factors associated with zinc deficiency. *J. Am. Osteopath. Assoc.* 2020; 120(11): 796–805. DOI: 10.7556/jaoa.2020.138
19. Sturmlechner I., Zhang C., Sine C., van Deursen E., Jeganathan K., Hamada N., Grasic J., Friedman D., Stutchman J., Can I., Hamada M., Lim D., Lee J., Ordog T., Laberge R., Shapiro V., Baker D., Li H., van Deursen J. p21 produces a bioactive secretome that places stressed cells under immunosurveillance. *Science.* 2021; 374(6567): eabb3420. DOI: 10.1126/science.abb3420
20. Cuadrado A., Nebreda A. Mechanisms and functions of p38 MAPK signalling. *Biochem. J.* 2010; 429(3): 403–417. DOI: doi: 10.1042/BJ20100323
21. Елистратова Е.В., Гречко А.В., Морозов С.Г., Юркин В.А. Изучение экспрессии молекулярного шаперона DNAJA3/Tid1 в лимфоцитах периферической крови больных atopическим дерматитом. *Патогенез*. 2016; 14(1): 67–71.
22. Елистратова Е.В., Иванченко О.Б., Гречко А.В., Морозов С.Г. Анализ экспрессии шаперонов DNAJB6/MRJ семейства HSP40 в клетках крови больных atopическим дерматитом при разных стадиях заболевания. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2016; 60(3): 23–30.
23. Елистратова И.В., Иванченко О.Б., Захарова И.А., Гречко А.В., Морозов С.Г. Измерение уровня митохондриального шаперона DNAJC15/MCSJ в клетках крови больных с atopическим дерматитом средней тяжести. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*, 2016; 60(2): 4–12.
24. Елистратова И.В. Роль стресса в обострении atopического дерматита у взрослых людей. *Патогенез*. 2018; 16(4): 157–160. DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.157-160
25. Mogno G., Carneiro F., Robbs B., Faget D., Viola J. Cell cycle and apoptosis regulation by NFAT transcription factors: new roles for an old player. *Cell Death Dis.* 2016; 7(4): e2199. DOI: 10.1038/cddis.2016.97

## References

1. Yusuf A., Abubakar M., Malami I., Ibrahim K., Abubakar B., Bel-lo M., Qusty N., Elazab S., Imam M., Alexiou A., Batiha G. Zinc metalloproteins in epigenetics and their crosstalk. *Life (Basel)*. 2021; 11(3): 186–195. DOI: 10.3390/life11030186.
2. Bartas M., Červeň J., Guziurová S., Slychko K., Pečinka P. Amino acid composition in various types of nucleic acid-binding proteins. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(2): 922–936. DOI: 10.3390/ijms22020922
3. Akmaev E.G., Aleksandrov A.S., Alchinova I.B., Bocharov E.V., Karganov M.Yu., Kryzhanovskii G.N., Kucheryanu V.G., Magaeva V.S., Morozov S.G., Noskin L.A., Panfilov D.N., Pshennikova M.G., Sarmanaev S.H., Sepiashvili R.I., Syuch N.I., Fisun A.YA., CHuvin B.T. [Sanologiya]. Ed. Kubatiev A.A., Simonenko V.D. M: Nauka, 2014, 285 p. (in Russian)
4. Hershinkel M. The zinc sensing receptor, ZnR/GPR39, in health and disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(2):439–445. DOI: 10.3390/ijms19020439
5. Kanda N., Hoashi T., Saeki H. Nutrition and atopic dermatitis. *J. Nippon Med. Sch.* 2021; 88(3): 171–177. DOI: 10.1272/jnms.JNMS.2021\_88-317
6. Jafari A., Noormohammadi Z., Askari M., Daneshzad E. Zinc supplementation and immune factors in adults: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2020: 1–19. DOI: 10.1080/10408398.2020.1862048
7. Nakajima K., Lee M., Bin B., Hara T., Takagishi T., Chae S., Sano S., Fukada T. Possible involvement of zinc transporter ZIP10 in atopic dermatitis. *J. Dermatol.* 2020; 47(2): e51–e53. DOI: 10.1111/1346-8138.15190
8. Mohammed J., Mehrotra S., Schulz H., Lim R. Severe infant rash resistant to therapy due to zinc deficiency. *Pediatr. Emerg. Care.* 2017; 33(8): 582–584. DOI: 10.1097/PEC.0000000000001218
9. Karabacak E., Aydin E., Kutlu A., Ozcan O., Muftuoglu T., Gunes A., Dogan B., Ozturk S. Erythrocyte zinc level in patients with atopic dermatitis and its relation to SCORAD index. *Postepy Dermatol. Alergol.* 2016; 33(5): 349–352. DOI: 10.5114/ada.2016.62841
10. Suzuki M., Suzuki T., Watanabe M., Hatakeyama S., Kimura S., Nakazono A., Honma A., Nakamaru Y., Vreugde S., Homma A. Role of intracellular zinc in molecular and cellular function in allergic inflammatory diseases. *Allergol. Int.* 2021; 70(2): 190–200. DOI: 10.1016/j.alit.2020.09.007
11. Gray N., Dhana A., Stein D., Khumalo N. Zinc and atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 2019; 33(6): 1042–1050. DOI: 10.1111/jdv.15524
12. Dhaliwal S., Nguyen M., Vaughn A., Notay M., Chambers C., Sivamani R. Effects of zinc supplementation on inflammatory skin diseases: A systematic review of the clinical evidence. *Am. J. Clin. Dermatol.* 2020; 21(1): 21–39. DOI: 10.1007/s40257-019-00484-0
13. Maarouf M., Vaughn A., Shi V. Topical micronutrients in atopic dermatitis: An evidence-based review. *Dermatol. Ther.* 2018; 31(5): e12659. DOI: 10.1111/dth.12659
14. Lee J., Jeon Y., Choi J., Kim H., Kim T. Effects of VitabridC12 on skin inflammation. *Ann. Dermatol.* 2017; 29(5): 548–558. DOI: 10.5021/ad.2017.29.5.548
15. Kim J., Yoo S., Jeong M., Ko J., Ro Y. Hair zinc levels and the efficacy of oral zinc supplementation in patients with atopic dermatitis. *Acta Derm. Venereol.* 2014; 94(5): 558–562. DOI: 10.2340/00015555-1772

16. Wiegand C., Hipler U., Boldt S., Strehle J., Wollina U. Skin-protective effects of a zinc oxide-functionalized textile and its relevance for atopic dermatitis. *Clin. Cosmet. Investig. Dermatol.* 2013; 6: 115–111. DOI: 10.2147/CCID.S44865
17. Kandalova O.V., Taratutina T. V., Martinova E.A. [Spontaneous and ceramide-induced apoptosis in the skin cells obtained from patients with atopic dermatitis, eczema, and psoriasis, compared with donors]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2012; 10(4): 60–65 (in Russian).
18. Gau J., Ebersbacher C., Kao T. Serum zinc concentrations of adults in an outpatient clinic and risk factors associated with zinc deficiency. *J. Am. Osteopath. Assoc.* 2020; 120(11): 796–805. DOI: 10.7556/jaoa.2020.138
19. Sturmlechner I., Zhang C., Sine C., van Deursen E., Jeganathan K., Hamada N., Grasic J., Friedman D., Stutchman J., Can I., Hamada M., Lim D., Lee J., Ordog T., Laberge R., Shapiro V., Baker D., Li H., van Deursen J. p21 produces a bioactive secretome that places stressed cells under immunosurveillance. *Science*. 2021; 374(6567): eabb3420. DOI: 10.1126/science.abb3420
20. Cuadrado A., Nebreda A. Mechanisms and functions of p38 MAPK signalling. *Biochem. J.* 2010; 429(3): 403–417. DOI: doi: 10.1042/BJ20100323
21. Elistratova I.V., Grechko A.V., Morozov S.G. [Molecular chaperon DNAJA3/Tid1 expression in the peripheral blood lymphocytes obtained from patients with atopic dermatitis]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2016; 14(1): 67–71 (in Russian)
22. Elistratova I.V., Ivanchenko O.B., Grechko A.V., Morozov S.G. [Heat shock protein HSP40 family chaperone DNAJB6/MRJ expression analysis in blood cells obtained from patients with atopic dermatitis in different phases]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya [Pathological Physiology and Experimental Therapy]*. 2016; 60(3): 23–30. (in Russian).
23. Elistratova I.V., Ivanchenko O.B., Zakharova I.A., Grechko A.V., Morozov S.G. [Mitochondrial chaperon DNAJC15/MCJ level measuring in the blood cells of patients with atopic dermatitis of moderate severity]. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya [Pathological Physiology and Experimental Therapy]*. 2016; 60(2): 4–12. (in Russian)
24. Elistratova I.V. Involvement of stress in relapse of atopic dermatitis in adults. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2018; 16(4): 157–160 DOI: 10.25557/2310-0435.2018.04.157-160 (in Russian)
25. Mogno G., Carneiro F., Robbs B., Faget D., Viola J. Cell cycle and apoptosis regulation by NFAT transcription factors: new roles for an old player. *Cell Death Dis.* 2016; 7(4): e2199. DOI: 10.1038/cddis.2016.97

### Сведения об авторах:

**Кандалова Ольга Владимовна** — кандидат медицинских наук, доцент кафедры кожных и венерических болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0003-0723-2800>

**Ключникова Дина Евгеньевна** — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры кожных и венерических болезней Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0001-6595-1825>

**Елистратова Ирина Владимировна** — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории физико-химической и экологической патофизиологии Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; старший врач отделения дерматологии Федерального государственного казённого учреждения здравоохранения «Главный военный клинический госпиталь войск национальной гвардии Российской Федерации»; <https://orcid.org/0000-0002-0393-4947>