



## RESUMO DE ARTIGO

## Immunoexpression of Adhesion Molecules During Human Fetal Hair Development

### *Imunoexpressão de Moléculas de Adesão Durante o Desenvolvimento do Cabelo Fetal Humano*

Laura Maria Andrade Silva<sup>1\*</sup>, Ricardo Hsieh<sup>2</sup>, Silvia Vanessa Lourenço<sup>3</sup>, Verônica Ottoni<sup>2</sup>, Neusa Valente<sup>4</sup>, Juliana Dumet Fernandes<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Postgraduate Program in Medicine and Health, School of Medicine, Federal University of Bahia, Bahia, Brazil; <sup>2</sup>Institute of Tropical Medicine, University of São Paulo -IMT-University of São Paulo, São Paulo, Brazil; <sup>3</sup>Stomatology Department, School of Dentistry, University of São Paulo, São Paulo, Brazil; <sup>4</sup>Dermatopathology Department, University of São Paulo, São Paulo, Brazil; <sup>5</sup>Postgraduate Program in Medicine and Health, School of Medicine, Federal University of Bahia, Bahia, Brazil

#### Summary

**Background:** Hair follicles are produced in a cyclical manner and the machinery involved in the reproduction of these follicles is present since the fetal stage. Although extensive research has been done on the human hair follicle, very little is known about the importance of adhesion molecules in its development.

**Methods:** We analyzed here, the immunoexpression of beta-1 integrin, p-cadherin, e-cadherin, and beta-catenin in hair follicles from 26 formalin-fixed and paraffin-embedded skin samples from human embryos and fetus between 12-23 weeks of gestational age.

**Findings:** The adhesion molecules beta-1 integrin and e-cadherin/p-cadherin were expressed from 12 weeks and seemed to play a role in regulating epidermis invagination. Beta-catenin immuno staining was negative in all cases; down regulation of this protein may be necessary for fetal hair development and thus facilitating hair follicle down growth.

**Conclusion:** Adhesion molecules are essential for hair follicle down growth and proliferation; integrins and cadherins play a major role in this process. More studies are needed to describe hair follicle development.

**Keywords:** Adhesion Molecules; Hair Follicle; Fetal Development; Immunohistochemist.

#### Resumo

**Introdução:** Os folículos capilares são produzidos de forma cíclica e o maquinário envolvido na reprodução desses folículos está presente desde a fase fetal. Embora extensa pesquisa tenha sido feita no folículo piloso humano, muito pouco se sabe sobre a importância das moléculas de adesão em seu desenvolvimento.

**Métodos:** analisamos aqui a imunoexpressão de integrina beta-1, p-caderina, e-caderina e beta-catenina em folículos capilares de 26 amostras de pele humana, fixada em parafina

**Resumo de Artigo:** Silva LMA, Hsieh R, Lourenço SV, Ottoni V, Valente N, Fernandes JD. Immunoexpression of adhesion molecules during human fetal hair development. *Histol Histopathol.* 2020 Aug;35(8):911-917. doi: 10.14670/HH-18-224. Epub 2020 Apr 29. PMID: 32364615.

#### Correspondence addresses:

Dra. Laura Maria Andrade Silva  
contato@dralauraandrade.com

**Received:** August 5, 2021

**Revised:** August 20, 2021

**Accepted:** August 28, 2021

**Published:** September 30, 2021

#### Data Availability Statement:

All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

**Funding:** This work was the result of authors' initiative. There was no support of research or publication funds.

**Competing interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

#### Copyright

© 2021 by Santa Casa de Misericórdia da Bahia. All rights reserved.  
ISSN: 2526-5563  
DOI: 10.35753

e embebidas em formol e de embriões humanos e fetos entre 12-23 semanas de idade gestacional.

Resultados: As moléculas de adesão integrina beta-1 e e-caderina / p-caderina foram expressas a partir de 12 semanas de idade gestacional e parecem desempenhar um papel na regulação da invaginação da epiderme. A imunomarcagem com beta-catenina foi negativa em todos os casos; A regulação negativa desta proteína pode ser necessária para o desenvolvimento do cabelo fetal, facilitando assim o crescimento do folículo capilar.

Conclusão: As moléculas de adesão são essenciais para o crescimento e proliferação do folículo piloso; integrinas e caderinas desempenham um papel importante neste processo. Mais estudos são necessários para descrever o desenvolvimento do folículo piloso.

Palavras-chave: Moléculas de adesão, Folículo piloso, Desenvolvimento fetal, Imunohistoquímica.

## Introdução

Os folículos pilosos (FP) são uma das estruturas mais dinâmicas dos mamíferos. A sua estrutura única está em constante renovação e é produzida de forma cíclica. O maquinário necessário para essa renovação está presente desde a fase fetal em virtude das células pluripotentes localizadas no bulge folicular. Em humanos, o desenvolvimento de FP ocorre no início do período fetal, entre 9-12 semanas de gravidez. A distribuição dos FPs começa na direção crânio-caudal, com os folículos primitivos aparecendo pela primeira vez na face e no couro cabeludo. Atualmente, o processo de desenvolvimento e maturação folicular é bem compreendido, mas há falta de conhecimento sobre as vias moleculares envolvidas neste processo.

A morfogênese dos FP e o seu subsequente desenvolvimento envolve uma série complexa de eventos desde um extenso remodelamento celular e de matriz extracelular. Algumas moléculas como proteoglicanos e os fatores de crescimento têm sido implicados nesses processos.

A sinalização entre o epitélio primitivo e o mesênquima pode ser coordenada por moléculas de adesão à pele; entretanto, os mecanismos moleculares de tais interações permanecem discutíveis e geraram considerável interesse de pesquisa (Figura 1).

O campo de pesquisa inicial no desenvolvimento dos FPs concentrou-se na identificação da classe de moléculas de adesão que são expressas diferencialmente na pele desde o desenvolvimento inicial até a idade adulta. As integrinas (beta-1 e beta-4) e a E- e P-caderinas são importantes para a adesão célula-célula e

para a manutenção da integridade do tecido. Eles também são importantes para a transdução de sinal no desenvolvimento da pele e morfogênese do tecido adulto e maduro. As moléculas de adesão celular, incluindo integrinas e caderinas, são as principais reguladoras do crescimento e diferenciação das células-tronco, tanto para o epitélio do folículo piloso quanto para os queratinócitos epidérmicos.

O objetivo do presente estudo foi, portanto, avaliar o papel das moléculas de adesão no desenvolvimento de FP. Assim, selecionamos algumas proteínas de adesão relacionadas a distúrbios foliculares clinicamente importantes, por meio de revisão da literatura relevante e estudamos a expressão dessas moléculas nos estágios iniciais de desenvolvimento do folículo piloso fetal humano e seu padrão espaço-temporal de expressão.

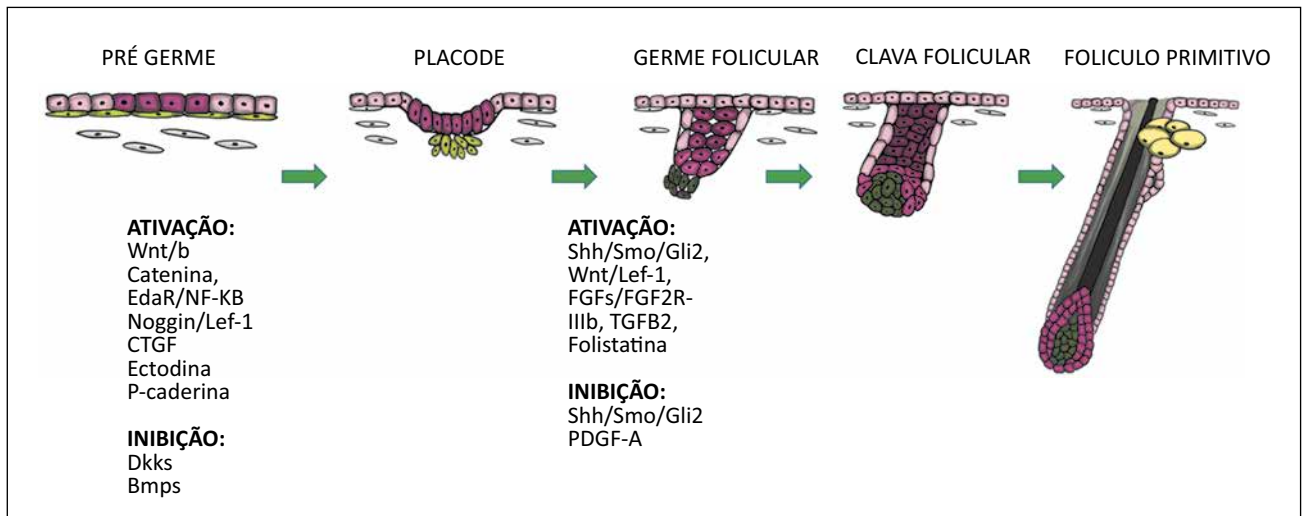
## Resultados

As Figuras 2 e 3 resume os dados encontrados em nosso estudo que estão caracterizados e representados pelas funções das caderinas E e P e na Beta 1 através dos modelos histológicos na formação dos FPs. A Figura 2 apresenta a imunexpressão dessas moléculas de adesão em folículos pilosos primitivos fetais, enquanto a Figura 3 demonstra a evolução da expressão dessas moléculas de adesão no feto em diferentes estágios de desenvolvimento no mesmo feto em 12 semanas e 21 semanas.

### Descrição da Figura 2

A. Expressão de beta-1 integrina em um feto de 17 semanas, no folículo primitivo. Expressão

**Figura 1.** Modelo esquemático das vias moleculares ativadas e inibidas responsáveis pela formação dos folículos pilosos moleculares.

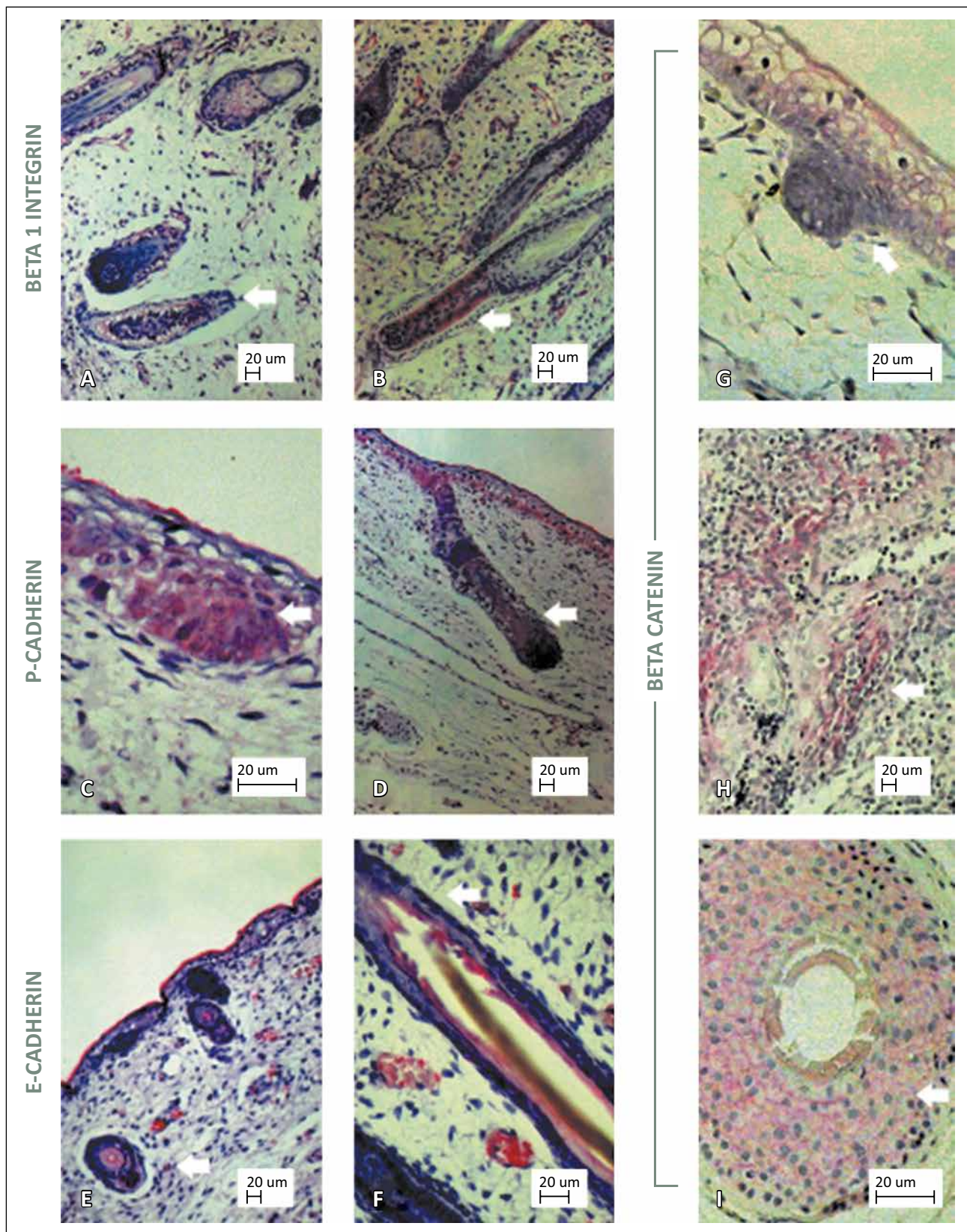


epitelial mais forte na bainha radicular externa. (setas brancas). B. Expressão de beta-1 integrina em um feto de 20 semanas em folículos pilosos primitivos. Expressão epitelial mais forte nas partes inferiores da bainha radicular externa, mas também no bulbo e no epitélio primitivo. (setas brancas). C. Expressão epitelial da caderina-P em um feto de 12 semanas, no placode. (seta branca). D. Expressão epitelial da caderina-P em um feto de 19 semanas no folículo primitivo. Expressão mais forte nas partes bainha radicular externa superior e inferior, mas alguma expressão também no epitélio primitivo. (seta branca). E. Expressão epitelial da E-caderina em folículo primitivo de feto de 15 semanas. Expressão mais forte no bainha radicular externa, interna mas também no epitélio primitivo. (setas brancas). F. Expressão epitelial da caderina-E em um feto de 23 semanas na prega de cabelo. Expressão mais forte no bainha radicular externa e externa. (setas brancas). G. Ausência de imunoexpressão de beta-catenina em placode fetal de 12 semanas. (seta branca). H. Controle positivo de beta-catenina no folículo primitivo (setas brancas). I. Controle positivo de beta-catenina no couro cabeludo de adultos. (setas brancas). A, B, D-F, H, I, x 20; C, G, x 40.

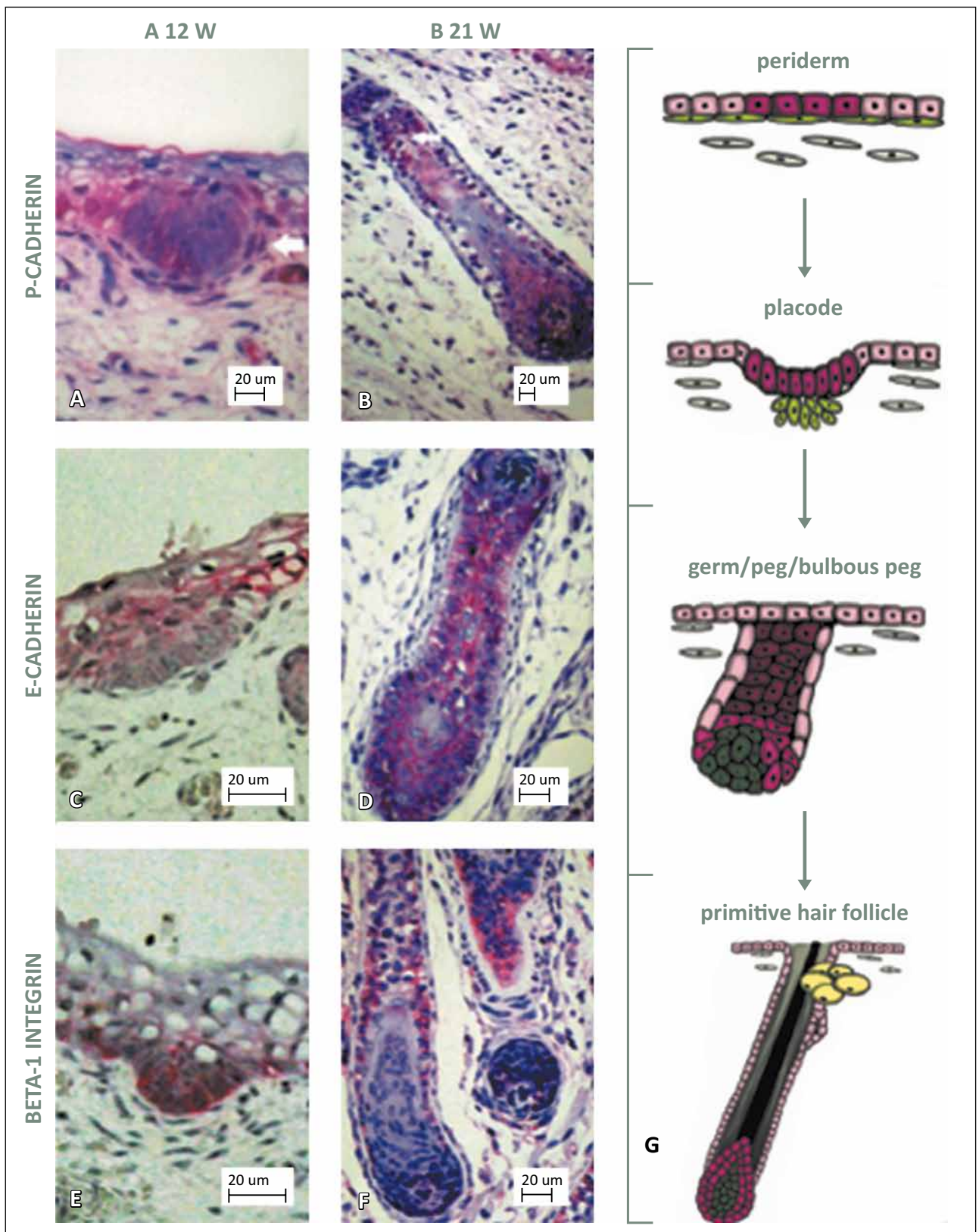
### Descrição da Figura 3

Figura esquemática das diferentes fases do desenvolvimento do folículo piloso. A. Imunoexpressão epitelial de P-caderina de embrião de 12 semanas no placode (difuso) (setas brancas). B. Imunoexpressão epitelial no folículo primitivo de um feto de 21 semanas (porção inferior e superior da bainha radicular externa). (setas brancas). C. Imunoexpressão epitelial de e-caderina em um embrião de 12 semanas no placode (porção superior) (setas brancas). D. Imunoexpressão epitelial no folículo primitivo de um feto de 21 semanas (difusa). (setas brancas). E. Imunoexpressão epitelial de integrina beta-1 no placode de um embrião de 12 semanas (porção inferior) (setas brancas). F. Imunoexpressão epitelial no folículo primitivo de um feto de 21 semanas (porção inferior). (setas brancas). G. Figura esquemática mostrando as diferentes fases do desenvolvimento do folículo piloso. O primeiro estágio compreende apenas o epitélio primitivo, que sofre invaginação epitelial para formar um placode de cabelo na primeira fase; na segunda fase, as células germinativas do cabelo epidérmico sofrem proliferação e polarização, para formar o pino de cabelo; finalmente, essas células formam o pino bulboso

**Figura 2.** Imunoexpressão de moléculas de adesão em folículos pilosos primitivos fetais por imunohistoquímica IHC.



**Figura 3.** Evolução da expressão de moléculas de adesão no feto em diferentes estágios de desenvolvimento no mesmo feto em 12 semanas e 21 semanas por imunohistoquímica (IHQ).



e o folículo capilar primitivo. A, C, E, x 40; B, D, F, x 20.

## Discussão e Conclusão

No presente estudo, analisamos os padrões de expressão e distribuição das moléculas de adesão no desenvolvimento dos FPs fetais humanos. Em estudos anteriores, essas mesmas moléculas foram estudadas na epiderme fetal e foi evidenciado que elas eram sincronizadas e reguladas de forma tempo-espacial. Dando continuidade à pesquisa iniciada por Lourenço e colaboradores em 2008, escolhemos 26 espécimes de pele de embriões e de fetos humanos, visto que há diferenças entre espécies nos FPs e nos seus marcadores celulares, o que poderia influenciar nos resultados se escolhêssemos outros hospedeiros. As diferenças mais importantes entre humanos e outras espécies são a duração da fase anágena e o ciclo capilar assíncrono do couro cabeludo humano.

Estudos *in vitro* revelaram que a beta-1 integrina regula a adesão e a diferenciação das células epidérmicas e desempenha um papel essencial na invaginação do germe capilar. A beta-1 integrina também é responsável pelas interações entre bainha radicular externa e as células da camada basal e pela proliferação de células do FP durante seu desenvolvimento. Ela também é indispensável para a organogênese e para a integridade morfológica e funcional dos tecidos na idade adulta. Nossos dados mostram que beta-1 integrina é uma das primeiras moléculas expressas nas fases iniciais do desenvolvimento dos FPs. Desde a fase de projeção epidérmica no embrião, a expressão imunohistoquímica da beta 1- integrina em FPs humanos embrionários foi mais frequente do que outras moléculas de adesão.

Nos tecidos da pele adulta, as integrinas são comumente encontradas na camada basal; entretanto, durante o período fetal, sua expressão é mais difusa ao longo da epiderme. Em nosso estudo, encontramos expressão

imunohistoquímica da beta-1 integrina em toda a pele. Essas moléculas podem ser alvos para o tratamento de algumas doenças que permaneceram intratáveis até agora. D'Ovidio e colaboradores (2007) mostraram que há um padrão alterado na distribuição das integrinas beta-1 e beta-4 no líquen plano pilar. Uma melhor compreensão do papel dessas moléculas é importante para entender a estrutura normal da pele e sua função em adultos saudáveis ou com doenças do folículo piloso.

A E-caderina é uma molécula importante necessária para a descida do FP. Estudos anteriores descobriram que a E-caderina pode ser vista na camada superficial do epitélio fetal e na fase de desenvolvimento dos anexos epidérmicos. Em nosso estudo, a expressão da E-caderina foi encontrada nas fases iniciais do desenvolvimento folicular (fetos de 12 semanas). Esses dados destacam o papel das caderinas na orquestração e sinalização dos processos iniciais de formação dos FPs humanos e corroboram com os resultados de estudos anteriores que indicam a importância das caderinas nos processos vitais de embriogênese, formação e manutenção arquitetônica de tecidos e órgãos.

Nossos resultados revelaram expressão imunohistoquímica da E-caderina em uma fase inicial do desenvolvimento folicular nas células do placoide e no epitélio e em FP primitivos na bainha radicular externa, consistente com a literatura anterior. Anteriormente, estudos demonstraram que a E-caderina é expressa em todas as células epiteliais e a P-caderina é mais expressa em células do placoide, tricócitos e nas áreas hiperproliferativas e profundas da epiderme.

Além disso, observamos que a P-caderina é mais específica para FP do que a E-caderina. A P-caderina é expressa em FP, bem como em todo o epitélio; sua expressão nos FPs foi superior à da E-caderina em nosso estudo. Em concordância com a literatura, nossos dados mostraram que a expressão imunohistoquímica da E-caderina foi difusa ao longo do epitélio primitivo e FP. A

P-caderina nas fases iniciais do desenvolvimento fetal tem um padrão de expressão difuso, mas há uma progressão durante o período gestacional, tendendo a se expressar apenas na camada basal e nos FPs.

A imunoexpressão da P-caderina justifica seu papel crucial na morfogênese dos FPs. É bem conhecido que a perda de função e mutação no gene *CDH3* que codifica a P-caderina resulta em duas doenças autossômicas recessivas: hipotricose com distrofia macular juvenil e hipotricose, acrodactilia e distrofia macular juvenil. Em ambas as síndromes, os pacientes têm pouco cabelo e perda progressiva de visão; na segunda síndrome também ocorrem defeitos no desenvolvimento dos membros, como malformações de mãos e pés. Esses dados destacam a necessidade de mais estudos sobre essas moléculas para sua aplicação diagnóstica e para potenciais alvos terapêuticos dessas e outras doenças genéticas.

E-caderina e  $\beta$ -catenina são moléculas de adesão que fazem parte das junções epidérmicas e sua modulação parece ser um evento crucial no processo de descida dos folículos pilosos embrionários. Sua expressão parece ser um evento crítico na morfogênese do placóide capilar e no ciclo folicular; a regulação negativa dessas proteínas pode ser uma pista para alguns tratamentos. Embora a importância relativa da  $\beta$ -catenina no desenvolvimento da FP seja conhecida, não foi possível detectar a imunoexpressão da  $\beta$ -catenina em nosso estudo. Isso por que a modulação negativa da  $\beta$ -catenina parece ajudar no crescimento do placóide e pode justificar esses achados. A  $\beta$ -catenina é uma molécula central na via Wnt. É necessário, mas não o suficiente para a indução dos placóides foliculares durante a embriogênese. Grupos selecionados de ativadores e inibidores moleculares de diferentes vias operam em paralelo para estabelecer a morfologia e apresentação correta dos folículos pilosos. A sinalização da via Wnt /  $\beta$ -catenina aumenta acentuadamente durante a fase anágena

e, subsequentemente, diminui à medida que o folículo piloso entra em catágeno ou telógeno. Essa diminuição é importante para a indução da fase catágena, incluindo a fase de quiescência e de manutenção das células-tronco do folículo piloso na fase telógena. O receptor do fator de crescimento epidérmico (EGFR) é uma molécula que se correlaciona com a morfogênese do folículo piloso e está implicada no ciclo do folículo piloso devido à sua correlação e a sua expressão com a via Wnt /  $\beta$ -catenina. O EGFR é necessário para a transição do folículo anágeno para o folículo catágeno ao inibir a expressão de Wnt e a atividade da  $\beta$ -catenina nos folículos capilares antes do início do catágeno.

Muitos estudos que analisaram a  $\beta$ -catenina no desenvolvimento do folículo capilar foram realizados em animais. Nesses estudos, a  $\beta$ -catenina foi expressa na bainha radicular interna, externa, matriz e haste do cabelo, além da porção epitelial de FP. A literatura mostra correlação da  $\beta$ -catenina com CD133, uma proteína encontrada apenas em humanos. Essa proteína foi correlacionada com a perda de  $\beta$ -catenina de membrana nas regiões onde foram expressas. Especulamos que, em nosso estudo, CD133 e EGFR foram superexpressos e a  $\beta$ -catenina não foi expressa. Assim, nosso próximo estudo analisará a expressão de CD133 e EGFR, para entender melhor por que a  $\beta$ -catenina não foi expressa em nossas amostras.

Nossos dados corroboram com os de estudos anteriores, que indicaram que as moléculas de adesão são essenciais para o crescimento e proliferação de FP. A integrina beta-1 e a E-caderina / P-caderina desempenham um papel importante neste processo. Os cabelos terminais tiveram uma expressão mais forte do que os cabelos velus nessas moléculas. A regulação negativa da beta-catenina parece ser útil para o crescimento do folículo para baixo. Outras investigações serão necessárias para compreender o desenvolvimento dos FPs em humanos para ajudar na patogênese, diagnóstico e tratamento destas doenças.

**Referências (artigo original)**

1. Ahmed N., Ghatak S., El Masry M., Gnyawai S., Roy S., Amer M., Everts H., Sem C. and Khanna S. (2017). Epidermal E-cadherin dependent  $\beta$ -catenin pathway is phytochemical inducible and accelerates anagen hair cycling. *Mol. Ther.* 25, 2502-2512.
2. Akiyama M., Smith L. and Shimizu H. (2000). Changing patterns of localization of putative stem cells in developing human hair follicles. *J. Invest. Dermatol.* 114, 321-327.
3. Brakebusch C., Hirsch E., Potocnik A. and Fassler R. (1997). Genetic analysis of beta1 integrin function: confirmed, new and revised roles for a crucial family of cell adhesion molecules. *J. Cell Sci.* 110, 2895-2904.
4. Brakebusch C., Grose R., Quondamatteo F., Ramirez A., Jorcano J. and Pirro A. (2000). Skin and hair follicle integrity is crucially dependent on beta 1 integrin expression on keratinocytes. *EMBO J.* 19, 3990-4003.
5. Chen D., Jarrell A., Guo C., Lang R. and Atit R. (2012). Dermal beta- catenin activity in response to epidermal Wnt ligands is required for fibroblast proliferation and hair follicle initiation. *Development* 139, 1522-1533.
6. Couchman J. and du Cros D.L. (1995). Proteoglycans and associated proteins of the mammalian hair follicle. *J. Invest. Dermatol.* 104, 40S-1S.
7. Couchman J., King L. and McCarthy J. (1990). Distribution of two basement membrane proteoglycans through hair follicle development and the hair growth cycle in the rat. *J. Invest. Dermatol.* 94, 65-70.
8. Couchman J., McCarthy K. and Woods A. (1991). Proteoglycans and glycoproteins in hair follicle development and cycling. *Ann. NY Acad. Sci.* 642, 243-251.
9. D'Ovidio R., Sgarra C., Conserva A., Angelotti U., Enriquez R. and Foti C. (2007). Altered integrin expression in lichen planopilaris. *Head Face Med.* 3, 11.
10. Dale B., Holbrook K., Kimball J., Hoff M. and Sun T. (1985). Expression of epidermal keratins and filaggrin during human fetal skin development. *J. Cell Biol.* 101, 1257-1269.
11. du Cros D., LeBaron R. and Couchman J. (1995). Association of versican with dermal matrices and its potential role in hair follicle development and cycling. *J. Invest. Dermatol.* 105, 426-431.
12. Furukawa F., Fujii K., Horiguchi Y., Matsuyoshi N., Fujita M., Toda K., Imamura S., Wakita H. and Shirahama S. (1997). Roles of E- and P-  
13. role of E- and P-cadherin adhesion molecules in embryonic histogenesis. I. Lung epithelial morphogenesis. *Development* 105, 263-270.
14. Holbrook A. (1978). Structure of the human fetal hair canal and initial hair eruption. *J. Invest. Dermatol.* 71, 385-90.
15. Krause K. and Foitzik K. (2006). Biology of the hair follicle: The basics. *Semin. Cutan. Med. Surg.* 25, 2-10.
16. Lavker M. and Sun T. (2000). Epidermal stem cells: properties, markers, and location. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 13473-13475.
17. Lin C., Yuan Y., Chen X., Li H., Cai B., Liu Y. and Huang K. (2015). Expression of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling, stem-cell markers and proliferating cell markers in rat whisker hair follicles. *J. Mol. Histol.* 46, 233-240.
18. Lourenco S., Kamibeppu L., Fernandes J., Sotto M. and Nico M. (2008). Relationship of adhesion molecules expression with epithelial differentiation markers during fetal skin development. *J. Cutan. Pathol.* 35, 731-737.
19. Moore L. (2015). The developing human: clinically oriented embryology Saunders Philadelphia. 451-455.
20. Oh J., Kloeppe J., Langan E., Kim Y., Yeo J., Kim M., His T., Rose C., Yoo G., Lee S., Seykora J., Kim J., Sung Y., Kim M., Paus R. and Plinkus M. (2016). A guide to studying human hair follicle cycling *in vivo*. *J. Invest. Dermatol.* 136, 34-44.
21. Qiong S., Weirong Y., Yong F., Min Y. and Penggao Y. (2017). Beta- catenin can induce hair follicle stem cell differentiation into transit- amplifying cells through c-myc activation, *Tissue Cell* 49, 28-34.
22. Sennett R., Wang Z., Rezza A., Grisanti L., Roitershtein N., Sicchio C., Mok K., Heitman N., Clavel C., Ma'ayan A. and Rendi M. (2015). An integrated transcriptome atlas of embryonic hair follicle progenitors, their niche, and the developing skin. *Dev. Cell* 34, 577-591.
23. Sprecher E. (2016). Inherited hair disorders. In: Rook's Textbook of Dermatology. Ninth Edition. Griffiths C.E., Barker J., Bleiker T., Chalmers R. and Creamer D. (eds). Vol 3, part 8, 89.1
24. Tripurani S.K., Wang Y., Fan Y.X., Rahimi M., Wong L., Lee M.H., Starost M.F., Rubin J.S. and Johnson G.R. (2018). Suppression of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling by EGF receptor is required for hair follicle development. *Mol. Biol. Cell* 1, 2784-2799.
25. Tsai S., Sennett R., Rezza A., Clavel C., Grisanti L., Zemla R., Najam S. and Rendl M. (2014). Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in dermal condensates is required for hair follicle formation. *Dev. Biol.* 385, 179-188.