

PSORİAZİS'DE MAST HÜCRELERİNİN ROLÜ*

Yrd. Doç. Dr. Şükrü O.ÖZDAMAR**, Öğ. Gör. Dr. Deniz SEÇKİN***, Dr. Levent YILDIZ**,
Yrd. Doç. Dr. Tayyar CANTÜRK***, Prof. Dr. Bedri KANDEMİR**, Prof. Dr. A.Yaşar TURANLI***

ÖZET: Mast hücreleri sadece allerjik reaksiyonlarda kritik öneme sahip efektör hücreler olmayıp, aynı zamanda, IgE'nin rol oynamadığı çok çeşitli biyolojik yanıtı da katılırlar. Çeşitli deri hastalıklarında mast hücrelerinin aktivitesinde veya sayısında artış saptanmıştır. Son yıllardaki çalışmalar, aralarında psoriasis'in de olduğu bu hastalıklarda mast hücrelerinin primer öneme sahip olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada, lezyonlu psoriatik deride mast hücrelerinin sayı ve yerleşimi hem histokimyasal (toluidin blue), hem de immünohistokimyasal boyama yöntemleri (a-1 antitripsin, lysozyme ve CD 68 antikorları) kullanılarak incelenmiştir. Toluidin blue ile boyanan mast hücreleri sayısının psoriasis lezyonlarında artış gösterdiği saptanmıştır. AAT, lysozyme (muramidase) ve CD68 (clone: KP1) antikorları-reaktif mast hücreleri, toluidin blue ile gösterilen mast hücrelerinden daha az sayıda izlenmiştir. Mast hücrelerinin psoriasis patogenezinde rol oynadığı, toluidin blue reaksiyonunun mast hücrelerinin incelenmesinde daha güvenilir bir yöntem olduğu kanısına varılmıştır.

ANAHTAR KELİMELEER: Psoriasis, mast hücreleri, toluidin blue, immünohistokimya.

SUMMARY: THE ROLE OF MAST CELLS IN PSORIASIS. Mast cells not only represent critical effector cells in allergic reactions, but also participate in a wide variety of biologic responses in which IgE has no demonstrable role. The presence of mast cells, often in an activated state or increased numbers, has been noted in various cutaneous disorders. Recent studies suggest that mast cells are of primary importance in these conditions including psoriasis. In this study, the number and the localization of mast cells in lesional psoriatic skin were investigated using both histochemical (toluidin blue) and immunohistochemical staining techniques (a-1-antitrypsin, lysozyme and CD 68 (KP1) antibodies). Mast cells detected by toluidin blue reaction were found to be increased in lesional psoriatic epidermis. a-1-antitrypsin, lysozyme and CD 68 (KP1) antibodies-reactive mast cells were lower than the ones stained with toluidin blue. Mast cells were thought to participate in pathogenesis of psoriasis, and toluidin blue reaction is more reliable method for the investigation of mast cells.

KEY WORDS: Psoriasis, mast cells, toluidin blue, immunohistochemistry.

GİRİŞ

Psoriasis, patogenezi halen tam olarak aydınlatılamamış sık görülen, kronik, inflamatuvar bir deri hastalığıdır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, psoriasis patogenezinde mast hücrelerinin de rol oynayabileceğini göstermektedir (1-5). Psoriasis lezyonlarında epidermal hiperplaziden önce dilate ve torsiye kapillerler ve endotelial hücre proliferasyonu saptanmıştır (6). Eruptif guttat psoriasis'de bu damar değişiklikleriyle birlikte mast hücrelerinde de degranülasyon izlenmiştir (4). Yeni oluşmuş psoriasis lezyonlarındaki mast hücreleri, matür lezyonlara göre çok daha fazladır. Koebner fenomeni ile psoriasis lezyonları oluşmadan önce mast hücrelerinde artış gözlenmiştir (5). Tedavi sonrası alevlenmede saptanan ilk histopatolojik değişiklikler arasında mast hücrelerindeki artış da yer almaktadır (3). Toluidin blue reaksiyonu mast hücrelerinin gösterilmesi ve incelenmesinde kullanılan konvansiyonel yöntemlerdendir. Mast hücreleri bu boya ile metakromazi veren çok sayıda granül içerirler (1-

5). Lysozyme ve a-1-antitrypsin (AAT) ve CD 68 ise, histiosit-monosit hücre serilerinin önemli belirleyicilerindendir ve mast hücrelerinde değişen miktarlarda saptanmaktadır (7,18,19).

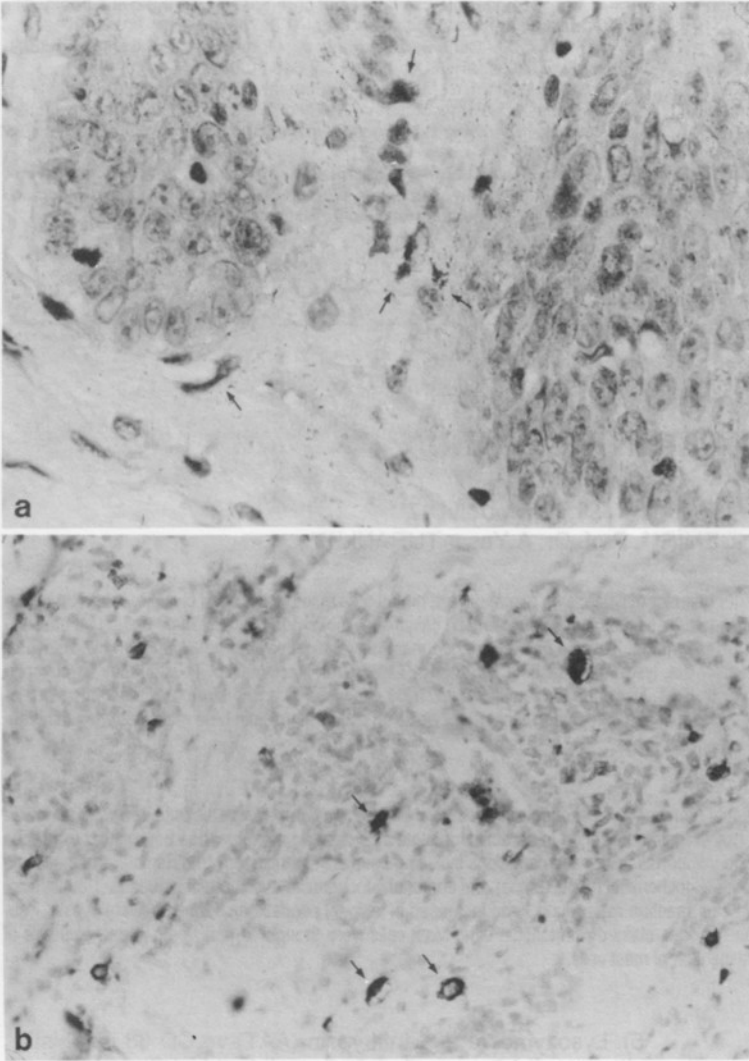
GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada 10 kadın ve 10 erkek psoriasis vulgarisli hastanın lezyonlu derilerinden punch biyopsi yöntemiyle lokal anestezi sonrası alınan deri biyopsi örnekleri incelendi. Kontrol grubu olarak, bazal ve skuamöz hücreli karsinom tanısı alan 20 olgunun eksizyon materyallerindeki sağlam deri örnekleri kullanıldı. % 10 tamponlu nötral formalinde fikse edilen doku örnekleri parafin kesitlerinde % 1'lik toluidin blue (ph:4.00) solüsyonunda metakromazi veren mast hücreleri incelendi; ayrıca biotin streptavidin peroksidad yöntemi (7) ile anti human CD 68 (monoklonal, mouse, clone: KP1), a-1-antitrypsin (polyclonal, rabbit) ve lysozyme (polyclonal, rabbit) antikorları ile immünreaksiyon veren mast hücreleri varlığı araştırıldı. Mast hücreleri dağılımları, her olgu için 5 subepidermal, 3 middermal ve 2 deep dermal lokalizasyonda olmak üzere toplam 10 büyük büyütme alanında (Nikon Optiphot-2 mikroskop, x10 oküler, x40 objektif=x400; 1 büyük büyütme alanı=0.125 mm²) sayılarak ve ortalama değerler alınarak incelendi. Toluidin blue reaktif mast hücre sayıları ile CD 68, alpha-1-antitrypsin ve lysozyme

* Bu çalışma 31 Ekim-4 Kasım 1994 tarihleri arasında İzmir'de yapılan XV. Ulusal Dermatoloji Kongresi'nde sözel bildiri olarak sunulmuştur.

** Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, Samsun

*** Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı, Samsun



Resim 1. Bir subepidermal alanda (a) ve orta dermiste (b), toluidin blue reaktif mast hücreleri (oklar) izleniyor (a, b: T.blue,x1000 imm.oil).

me immün reaksiyonu değerleri karşılaştırıldı. Elde edilen veriler Systatw5 (Windows 3.1 uyumlu) istatistik programı kullanılarak bilgisayar ortamında değerlendirildi ve yorumlandı. Gruplararası fark Student t testi ile araştırıldı; p değeri 0.05'in altındaki sonuçlar anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Psoriasis ve kontrol grubunda toluidin blue, CD 68, AAT ve lysozyme immün reaktif mast hücre sayılarına ait bulgular Tablo 1'de gösterilmiştir.

Çalışmamızda hem hasta, hem de kontrol grubunda toluidin blue reaktif mast hücrelerinin subepidermis ve orta dermiste; kapillerler, kıl follikülleri ve sebace bezler çevresinde, heterojen karakter ve değişen derecelerde dağılım gösterdiği izlendi. Mast hücrelerinin psoriasis grubunda sayıca artmış olduğu saptandı ($p < 0.05$) (Resim 1).

Her iki grupta da CD 68 antikoru reaktif hücrelerin yerleşimi; toluidin blue reaktif hücrelerinki ile benzerlik gösteriyordu. Mast hücre sayıları açısından hasta ve kontrol grubu

arasındaki fark anlamsız bulundu ($p > 0.05$) (Resim 2).

AAT ve lysozyme immün reaksiyonu gösteren hücrelerin, iki grupta da daha çok orta ve derin dermiste dağılım gösterdiği dikkati çekti. Mast hücre sayılarında farklılık saptanmadı ($p > 0.05$) (Resim 3,4).

TARTIŞMA

Mast hücrelerinin derideki tip I hipersensitivite reaksiyonlarındaki rolleri çok iyi bilinmektedir. Ancak, IgE aracılı allerjik reaksiyonların yanı sıra, mast hücreleri, IgE'nin rol oynamadığı çok çeşitli biyolojik yanıtta da görevlidir (1,8-11).

Mast hücreleri kemik iliği kaynaklı hücrelerdir ve vücutta tüm konnektif dokularda; özellikle de, deride dermis ve subkutan dokuda, respiratuvar, gastrointestinal ve genitoüriner traktuslarda subepitelyal bölgelerde çok sayıda bulunurlar; kan ve lenf damarlarının çevresinde, periferik sinirlerin içinde veya yakınında yerleşim gösterirler (1,10).

Mast hücreleri immünolojik ve nonimmünolojik stimuluslara yanıt olarak degranülasyona uğrar. Mast hücrelerinin granülleri içinde önceden varolan ürünler ve fosfolipid membrandan kaynaklanan ve yeni sentez edilen maddeler mast hücrelerinin immün ve nonimmün fonksiyonlarını yerine getirirler (Tablo 2) (1). En iyi bilinen mast hücre mediatörlerinden histamin aynı zamanda endotel hücreleri ve fibroblastlar için mitojeniktir. Heparin ise bir damar büyüme faktörü olarak da etki gösterir (1).

Mast hücrelerinin çeşitli sitokinlerin güçlü bir kaynağı olduğunun anlaşılmasıyla; mast hücre aktivasyonunun geç faz reaksiyonlarının ortaya çıkmasında görev aldığı ve diğer kalıcı inflamatuvar yanıtları etkilediği ortaya çıkmıştır (8-10). Fare mast hücrelerinin in vitro stimülasyonu ile pek çok sitokin için mRNA düzeyinde ve ayrıca bazı sitokinlerin düzeyinde artış saptanmıştır. Bunlar, proinflamatuvar ve mitojenik özellikleri olan sitokinlerdir. Mast hücrelerinden salınan bu sitokinler arasında; interleukin-1,3,4,5 ve 6, granülosit-makrofaj-koloni stimüle edici faktör, interferon- γ , makrofaj inflamatuvar proteinler ve T hücresi aktivasyon antijeni-3 ve tümör nekrozis faktör-a yer almaktadır. Bu sitokinler sadece IgE ve diğer immün yanıtı düzenlemekle kalmayıp, inflamasyon, hemostaz, hematopoez, anjiyogenez ve dokunun yeniden şekillenmesinde de rol oynarlar (8-10). Mast hücrelerinden kaynaklanan bu sitokinler direkt etkilerini dokuda bulunan çeşitli hücreler (epitelyal hücreler-keratinositler, fibroblastlar ve diğer stromal hücreler, vasküler endotelial hücreler, lenfositler ve eozinofil polimorfonükleer lökositler) üzerinde gösterirler. Sitokin aracılı bu etkiler diğer mast hücre mediatörlerinin etkileri ile birlikte ortaya çıkar. Bu sitokinlerden bazıları, vasküler endotelial hücreler ve/veya epitelyal hücreler üzerindeki adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırarak inflamatuvar hücre kemotaksisinde rol oynar. Ayrıca bu hücrelerden ve mast hücrelerinden yeni sitokinlerin salınımını uyularak da inflamatuvar reaksiyonun artışına neden olurlar (8-10).

Psoriasis, histopatolojik olarak epidermal hiperproliferasyon, inflamatuvar hücre birikimi ve dermal papiller damar değişiklikleri ile karakterize, kronik bir deri hastalığıdır (12).

**TABLO 1: PSORİAZİS VE KONTROL GRUBUNDA
T.BLUE, CD 68, AAT VE LYSOZYME REAKTİF
HÜCRE SAYILARI (ORTALAMA ST.HATA)
(1 BBA-400x=0.125 mm2)**

	Toluidin blue		CD68 (KP1)		AAT		Lysozyme	
PSORİAZİS	8.27	0.66	1.80	0.18	2.08	0.33	2.02	0.47
KONTROL	3.11	0.41	1.96	0.36	1.75	0.16	1.52	0.19
P	<0.05		>0.05		>0.05		>0.05	

Patogenezi günümüzde halen tam olarak aydınlatılamamıştır. Son yıllarda yapılan çeşitli araştırmalar ile psoriasis'deki histopatolojik değişikliklerde mast hücrelerinin de rol oynadığı düşünülmektedir.

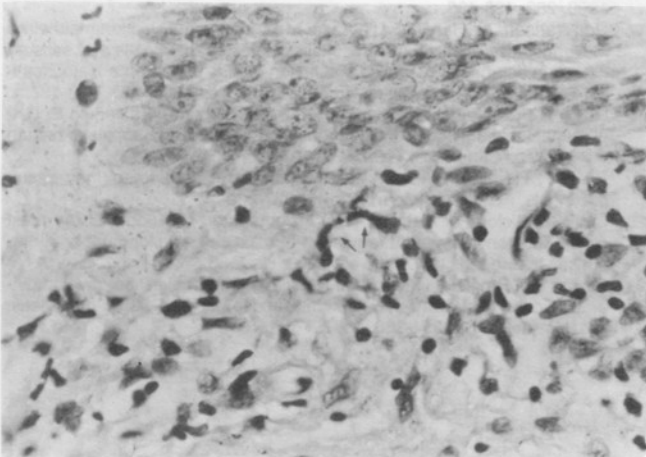
Psoriasisde gözlenen erken morfolojik değişikliklerden birisi mast hücrelerindeki degranülasyondur (3,4,13). Lezyonlu deride mast hücre degranülasyonunun yanısıra kapillerlerin dilate ve torsiyone hal aldığı saptanmış, ayrıca endotel hücrelerinde hiperproliferasyon ve ödem izlenmiştir. Bu Koebner fenomeni ile oluşturulan yeni psoriasis lezyonlarında mast hücrelerinde anormal bir proliferasyon olduğu, kronik veya antrolin ile tedavi edilen lezyonlarda ise mast hücre sayısının azaldığı saptanmıştır (5). Walton ve DeSouza tarafından yapılan bir başka araştırmada ise psoriasis'li hastaların hem lezyonlu hem de lezyonsuz derilerinde mast hücrelerinin arttığı gösterilmiştir (14). Spesifik bir mast hücre belirleyicisi olan proteolitik enzim tryptase kullanılarak yapılan çalışmalarda, psoriatic lezyonlarda lezyonlu epidermisde; dermisde, özellikle epidermise çok yakın lokalizasyonlarda bu enzimi taşıyan hücrelerin sayıcı artış gösterdiği saptanmıştır. Tryptase pozitif mast hücrelerinin lezyonlu deride artması, bu enzimin psoriasis lezyonlarının oluşmasında spesifik bir rol oynadığını düşündürmektedir (15,16). Lezyonlu derideki papiller dermisde mast hücresi ve sinirler arasındaki ilişkide belirgin bir artış gösterilmiştir. Duyu sinirlerinden salınan nöropeptidlerin, mast hücre degranülasyonuna yol açması psoriasis'deki inflamasyonun nörojenik kökenli olabileceğini düşündürmektedir (17). Mast hücrelerinde toluidin blue ile metakromazi veren ajan, yüksek kon-



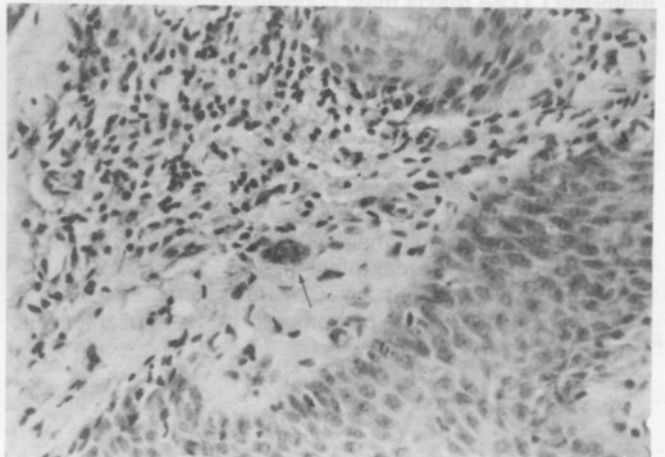
Resim 3. a-1-antitrypsin immünoreaktif bir mast hücre grubu (biotin-streptavidin peroksidaz, x1000 imm.oil).

santrasyonda bulunan ve bir sülfatlı mukopolisakkarid olan heparindir. Bu araştırmada, toluidin blue ile boyanan mast hücreleri sayısının psoriasis lezyonlarında artış gösterdiği, toluidin blue reaktif hücrelerin özellikle subepidermis ve orta dermisde; kapillerler, kıl follikülleri ve sebace bezler çevresinde yoğunlaştığı saptandı. Çalışmamızda psoriasis'li hastaların lezyonsuz derilerinden alınmış deri örnekleri kontrol grubu içine alınamamış; ancak sonuçlarımız bu konuda daha önce yapılmış çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile uyumlu bulunmuştur (2,3,5,13-17).

Muramidase olarak da bilinen lysozyme 15 kd ağırlığında bir enzimdir. Bakteri duvarlarında bulunan N-acetyl-D-glucosamine ile N-acetyl muramic asid arasındaki β -(1-4)-glycosidic bağlantının hidrolizini katalize eder. a-1-antitrypsin (AAT), 54 kd ağırlığında bir glycoprotein olup, bir akut faz plazma proteaz inhibitörüdür ve serumdaki a-1-globulin fraksiyonunun sahip olduğu anti proteolitik enzim aktivitesinin % 90'ından sorumludur. Birincil sentez yeri hepatositlerdir. Lysozyme ve AAT, lenf, mukus, tükürük gibi çeşitli vücut sıvılarında bulundukları gibi, çeşitli matürasyon evrelerindeki normal insan kemik iliği myeloid seri hücrelerinde de sentezlenir ve intrasitoplazmik granüllerde depolanırlar. Lysozyme, epitelioid histiositlerde ve periferik kan



Resim 2. CD 68 immünoreaktif mast hücreleri (oklar) gözlenir (biotin-streptavidin peroksidaz, x1000 imm.oil).



Resim 4. Lysozyme (muramidase) immün reaksiyonu gösteren bir mast hücresi (ok) görülüyor (biotin-streptavidin peroksidaz, x1000 imm.oil).

TABLO 2: İNSAN MAST HÜCRE ÜRÜNLERİ**Vazoaktif ve Düz kas kontrakte edici maddeler**

Histamin
Fosfolipid ürünler*
PGD2, PGF2a
TXA2
LTC4, LTD4, LTE4
PAF

Kemotaktik faktörler

ECF-A
ECF oligopeptidleri
HMW-NCF

Enzimler

Tryptase

N-Acetyl-β-D-glukosaminidase A**β-Glucuronidase**

Arylsulfatase'lar
Chymotryptic neutral protease

Proteoglikanlar

Heparin (Bağ dokusu mast hücreleri)
Condroidin sulfate-E (mukozal/kemik iliği mast hücreleri)

ECF, Eosinophil chemotactic factor; ECF-A, Anafaksi'nin eosinophil chemotactic factor'u; HMW-NC, high molecular weight neutrophil chemotactic factor; LTC, LTD, LTE, leukotrien'ler C;D; E; PAF, platelet activating factor; PGD, PGF, prostaglandin'ler D ve F; TXA, thromboxane A.

* Membran kökenli

monositlerinde büyük miktarlarda bulunur. Her iki molekül de histiosit-monosit serilerinin önemli belirleyicilerindendir ve mast hücrelerinde değişen miktarlarda saptanmaktadır (7,21). Bu hücrelerde lysozyme ekspresyonu AAT'e oranla daha yoğun izlenmektedir. CD 68 ise, moleküler ağırlığı yaklaşık 110 kd olan ve lizozomal granüller ile ilişkili intrasitoplazmik bir moleküldür. Çeşitli dokulardaki mast hücrelerinde ve makrofajlarda, polimorfonükleer lökositlerde ekspresyonları gösterilmiştir (7,18). Bu araştırmada, AAT ve lysozyme reaktif mast hücrelerinin sayısında kontrol grubuna göre fark saptanmadı. Ayrıca, bu hücrelerin daha çok orta ve derin dermiste yerleştikleri izlendi. Monosit ve makrofajları göstermekte kullanılan AAT ve lysozyme antikorları ile monoklonal antikor CD68 (KP1) ile normal, reaktif, malign ve/veya neoplastik mast hücrelerinin boyanması, mast hücreleri ile myelomonositik sistem arasında yakın bir sitogenetik ilişkinin olduğunu göstermektedir (18,19). Çalışmamızda CD 68 reaktif mast hücrelerinin psoriasis'li derideki sayılarında kontrol grubuna göre artış saptanmadı. Bu hücrelerin toluidin blue reaktif mast hücreleri gibi subepidermis ve orta dermiste yoğunlaştığı gözlemlendi. AAT, lysozyme ve CD 68 reaktif mast hücreleri sayısının, toluidin blue reaktif hücrelere göre daha az saptanmasının nedeni, bu antikorlarla matür mast hücrelerinin toluidin blue ile olduğu kadar iyi gösterilememesi olabilir (18,20).

Araştırmamızda; psoriasis'li hastaların lezyonlu derilerinde toluidin blue reaktif mast hücrelerinin sayılarında artış saptanmış; monosit-makrofaj belirleyicileri olan AAT, lysozyme (muramidase) ve CD 68 (clone:KP1) psoriasis'deki mast hücrelerini göstermede ilk kez kullanılmıştır.

Bu antikorlarla saptanan mast hücrelerinin, toluidin blue ile gösterilen mast hücrelerinden sayıca daha az olmaları nedeniyle psoriasis'deki mast hücrelerinin matür ve/veya reaktif hücreler oldukları, dolayısıyla toluidin blue reaksiyonunun mast hücrelerinin incelenmesinde en güvenilir yöntem olduğu kanısına varılmıştır. Sonuç olarak; psoriasis'li hastaların lezyonlu derilerinde mast hücre sayısında artış saptanması nedeniyle çok çeşitli mediatör ve sitokin salgılayan bu hücrelerin psoriasis'deki keratinosit hiperproliferasyonunda, inflamatuvar hücre birikimi ve vasküler değişikliklerde rol oynadığı ve böylece psoriasis patogeneğinde sorumlu faktörlerden biri olabileceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Rothe MJ, Nowak M, Kerdel FA. The mast cell in health and disease. *J Am Acad Dermatol* 1990; 23: 615-624.
2. Töyry S, Fraki J, Tammi R. Mast cell density in psoriatic skin. The effect of PUVA and corticosteroid therapy. *Arch Dermatol Res* 1988; 280: 282-285.
3. Schubert C, Christophers E. Mast cells and macrophages in early relapsing psoriasis. *Arch Dermatol Res* 1985; 277: 352-358.
4. Brody I. Dermal and epidermal involvement in the evolution of acute eruptive guttate psoriasis vulgaris. *J Invest Dermatol* 1984; 82: 465-470.
5. Toruniowa B, Jablonska S. Mast cells in the initial stages of psoriasis. *Arch Dermatol Res* 1988; 280: 189-193.
6. Telner P, Fekete Z. The capillary response in psoriatic skin. *J Invest Dermatol* 1961; 36: 225-230.
7. Taylor CR, Cote RJ. Immunomicroscopy: A Diagnostic Tool for the Surgical Pathologist, 2nd ed, Philadelphia, Saunders, 1994; 94-106.
8. Galli SJ, Gordon JR, Wershil BK. Mast cell cytokines in allergy and inflammation. *Agents & Actions Suppl* 1993; 43: 209-220.
9. Galli SC, Gordon JR, Wershil BK. Cytokine production by mast cells and basophils. *Curr Opin Immunol* 1991; 3: 865-873.
10. Galli SJ. New concepts about the mast cell. *New Engl J Med* 1993; 328: 257-265.
11. Benyon RC. The human skin mast cell. *Clin and Exp Allergy* 1989; 19: 375-387.
12. Barker JNWN. The pathophysiology of psoriasis. *Lancet* 1991; 338: 227-230.
13. Brody I. Mast cell degranulation in the evolution of acute eruptive guttate psoriasis vulgaris. *J Invest Dermatol* 1984; 82: 460-464.
14. Walton S, DeSouza EJ. Variation in mast cell numbers in psoriasis and lichen planus: Comparisons with normal skin. *Dermatologica* 1983; 166: 236-239.
15. Harvima IT, Naukkarinen A, Harvima RJ, Horsmanheimo M. Enzyme- and immunohistochemical localisation of mast cell tryptase in psoriatic skin. *Arch Dermatol Res* 1989; 281: 387-391.
16. Harvima IT, Naukkarinen A, Harvima RJ, Aalto M-L, Neittanmaki H, Horsmanheimo M. Quantitative enzyme-histochemical analysis of tryptase- and chymase-containing mast cells in psoriatic skin. *Arch Dermatol Res* 1990; 282: 428-433.
17. Naukkarinen A, Harvima IT, Aalto M-L, Harvima RJ, Horsmanheimo M. Quantitative analysis of contact sites between mast cells and sensory nerves in cutaneous psoriasis and lichen planus based on a histochemical double staining technique. *Arch Dermatol Res* 1991; 283: 433-437.
18. Horny H-P, Schaumburg-Lever G, Bolz S, Geerts ML, Kaiserling E. Use of monoclonal antibody KP1 for identifying normal and neoplastic human mast cells. *J Clin Pathol* 1990; 43: 719-722.
19. Ruck P, Horny H-P, Kaiserling E. Immunoreactivity of human tissue mast cells. *Acta Pathol Jpn* 1992; 42: 227-228.
20. Galli SJ. Biology of disease. New insights into "The riddle of the mast cells". Microenvironmental regulation of mast cell development and phenotypic heterogeneity. *Lab Invest* 1990; 62: 5-33.
21. Pinkus GS. Profile of intracellular lysozyme in normal tissue, myeloproliferative disorders, hairy cell leukemia and other pathologic processes. *Am J Pathol* 89 (2): 351-366, 1977.