

Eritema Multiforme'de Nitrik Oksit Düzeyleri[¶]

LEVELS OF NITRIC OXIDE IN ERYTHEMA MULTIFORME

Ali KARAKUZU*, Akın AKTAŞ**, Mustafa ATASOY***, Seyithan TAYSI****, Fatma ŞAHAN***, Ahmet KIZILTUNÇ*****

* Yrd.Doç.Dr., Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji AD,
** Doç.Dr., Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji AD,
*** Uz.Dr., Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji AD,
**** Arş.Gör.Dr., Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD,
***** Doç.Dr., Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, ERZURUM

Özet

Eritema multiforme (EM)'nin patogenezi tam olarak anlaşılammıştır. Eritema nodozum ve nekrotizan vaskülit gibi hastalıklarla birlikte görülmesi, hastalığın temelinde immünolojik bir olayı düşündürülebilir. EM'nin tipik target lezyonlarında mikrovasküler hasarla birlikte yoğun dermal inflamasyonun nedeni açık değildir. Histolojik olarak epidermiste nekroz görülür. Nitrik oksit (NO) apoptoz ve nekroza neden olabilir, hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar özelliklere sahiptir. Bazı inflamatuvar olaylarda NO seviyesi artmaktadır. Bu noktada; EM'nin patogenezinde NO'in doğrudan olmasa da dolaylı bir rolü olabilir.

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı'nda yaptığımız bu çalışmada patogenezinin aydınlatılmasına yardımcı olabileceği düşüncesi ile 19 hasta ve 27 kontrol grubunda serum NO düzeylerini spektrofotometrik yöntem ile araştırılmıştır. Fakat istatistiksel olarak aralarında anlamlı bir fark saptanmamıştır (p>0.05).

Anahtar Kelimeler: Eritema multiforme, nitrik oksit

T Klin Dermatoloji 2001, 11:133-136

Summary

The pathogenesis of EM is still not understood exactly. Because EM might be associated with some diseases like erythema nodosum and necrotizing vasculitis, it could be thought that EM has an immunologic base. The cause of the intense dermal inflammation associated with microvascular damage in the typical target lesions of EM is unclear. Epidermal necrosis is observed histologically.

NO has both pro-inflammatory and anti-inflammatory properties. NO could cause necrosis and apoptosis. The levels of NO were found to be elevated in some inflammatory conditions. In that point; NO may not play a role directly but may be indirectly in pathogenesis of EM.

In our study performed in Department of Dermatology at Atatürk University Faculty of Medicine, we determined serum levels of NO in 19 patients and 27 controls by spectrophotometric method with the idea of helping for enlightening of pathogenesis of EM. But, no significant statistical difference was found between patients and controls (p>0.05).

Key Words: Erythema Multiforme, Nitric oxide

T Klin J Dermatol 2001, 11:133-136

Eritema multiforme (EM), genellikle genç erişkinlerde görülen, akut, deri ve mukoz membranlara sınırlı, hedefe benzer belirgin lezyonlarla karakterize, kendi kendini sınırlayan, ekzantematik bir reaksiyondur (1-3). Çok sayıda etyolojik ve tetikleyici faktörler tanımlanmakla birlikte,

EM'nin patogenezi tam olarak anlaşılammıştır. Eritema nodozum ve nekrotizan vaskülit gibi hastalıklarla seyrek de olsa birlikte görülmesi, hastalığın temelinde immünolojik bir olayı düşündürülebilir (1).

Nitrik oksit (NO), son zamanlarda biyolojik olaylarda önemli fonksiyonları olduğu anlaşılan, hücre içi ve hücreler arası transmitter özelliği olan bir moleküldür. Endotel hücrelerinde, nöronal hücrelerde, fibroblastlarda, trombositlerde, makrofaj ve nötrofillerde L-arjinin aminoasitinden, nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından "L-arjinin-NO Metabolik Yolu" ile sentezlenir ve salınır. NO'in

Geliş Tarihi: 21.08.2000

Yazışma Adresi: Dr. Ali KARAKUZU
Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Dermatoloji AD, ERZURUM

[¶]Bu çalışma 1-4 Haziran 2000 tarihinde yapılan III. Çukurova Dermatoloji Günlerinde poster olarak sunulmuştur.

yarı ömrü çok kısadır (5-8 sn) ve hücre membranlarından serbest diffüze olma özelliğine sahip, sıvı yapıda anstabil bir maddedir. Hızlı bir şekilde, kendiliğinden nitritlere (NO₂⁻) ve nitratlara (NO₃⁻) dönüşerek metabolize olur (4-9).

EM'nin tipik lezyonlarında mikrovasküler hasar, yoğun dermal inflamasyon ve epidermiste nekroz görülür (3). NO, apoptoz ve nekroza neden olabilir, hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar özelliklere sahiptir. İnflamasyon sırasında bazı proinflamatuvar maddelerin (eikonosoidler) üretimini uyarmakta ve siklooksijenazın etkilerini artırmaktadır (10,11). NO aynı zamanda lökosit ve trombositlerin endotele adezyonlarını, lenfosit gelişimini ve fagositlerce antioksidan üretimini inhibe ederek antiinflamatuvar özellik göstermektedir (11-14). Sepsis, ülseratif kolit, psoriasis, romatoid artrit ve osteoartrit gibi inflamatuvar olaylarda NO seviyesi artmaktadır (11,15). Deneysel olarak oluşturulmuş ileum inflamasyonu, NOS inhibitörleri ile düzeltilmektedir (4). NO, kan basıncının regülasyonunda ve nörotransmitter olarak da immünitenin düzenlenmesi gibi biyolojik ve patolojik olaylarda önemli rol oynamaktadır (4,5,9).

Biz de çalışmamızda, patogenezinin aydınlatılmasına yardımcı olabileceği düşüncesi ile, patogenezinde immünolojik bir olayın da düşünüldüğü eritema multiformede, serum NO düzeylerini araştırdık.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Polikliniği'ne başvuran veya klinikte yatan, yaşları 13-70 yaş arasında değişen 19 eritema multiformeli hasta ve 27 sağlıklı kişi kontrol grubu olarak alınmıştır. Hasta ve kontrol grubu, yaş ve cinsiyet olarak uyumlu idi. Kontrol grubumuzda parametreyi etkileyecek psoriasis, romatoid artrit, osteoartrit, sistemik lupus eritematosus, pankreatit, üveit, sepsis ve ülseratif kolit gibi herhangi bir inflamatuvar hastalık yoktu. Hastaların tanıları klinik ve histopatolojik olarak konuldu. Bize başvurmadan önce tedavi verilmiş olanlar çalışma dışında bırakıldı.

Kan örnekleri, hasta ve kontrol grubundan 12 saatlik açlık dönemini takiben sabah saat 08-10 arasında alındı. Biyokimya tüplerine alınan 7-8

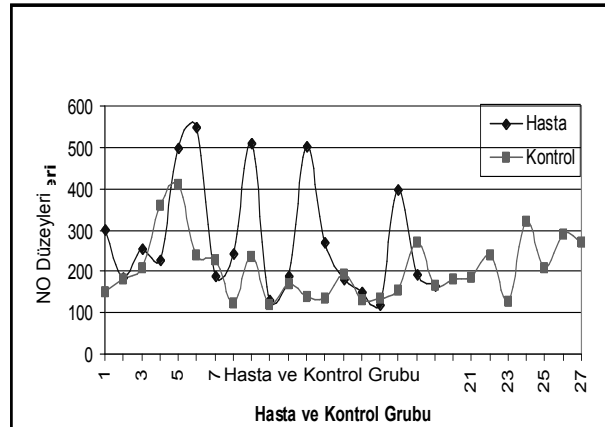
cc venöz kan yarım saatlik beklemeden sonra 3000 devirde 10 dakika santrifüje edildi. Serumlar hemen tüplere aktarılıp, çalışma zamanına kadar -80°C'de derin dondurucuda saklandı. Hemolizli ve lipemik serumlar çalışma kapsamına alınmadı. Çalışmaya alınan serumlarda NO seviyeleri Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarımızda spektrofotometrik yöntem ile saptandı (16).

Hasta ve kontrol grubunun NO seviyeleri arasında Mann Whitney-U testi yapıldı ve veriler istatistiksel olarak değerlendirildi. Hasta ve kontrol grubunda serum NO değerlerinin ortalama değeri ve standart sapması hesaplandı. Anlamlılık için p<0.05 referans alındı.

Bulgular

Çalışmaya aldığımız EM'li hastalarımızın 10'u (%52.6) erkek, 9'u (%47.4) kadın, toplam 19 kişiden oluşmaktaydı. Olgularımızın en küçüğü 13, en büyüğü 70 yaşında ve yaş ortalaması ise 32.5 yıl idi. Kontrol grubundaki 27 kişinin 15 (%55.5)'i kadın, 12 (44.5)'si erkek olup, en küçüğü 18, en büyüğü 54 yaşında ve yaş ortalaması 31.1 yıl idi.

EM'li hastalarda NO'nin ortalama değeri 277.36 ± 32.65 mMol/L, kontrol grubunda ise 206.81 ± 14.52 mMol/L olarak saptanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarının NO düzeyleri grafikte görülmektedir (Şekil 1). EM'li hastaların ve kontrol grubunun serum NO düzeylerinin istatistiksel olarak karşılaştırılmasıyla da P=0.11 ve Z=-1.58 (p>0.05) bulunarak EM'li hastaların serum NO seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla anlamsız



Şekil 1. Hasta ve Kontrol Grubunda NO Düzeyleri.

olduğunu saptanmıştır.

Tartışma

Nitrik oksit (NO) endotel hücrelerinde oluşan, damar düz kaslarına etki ederek vazodilatasyona ve kan akımının artışına sebep olan uyarıcı molekül olarak tanımlanmaktadır (17). NO, nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından L- arjinin aminoasidinden sentezlenir. NOS'un üç izoformu bulunmaktadır. nNOS nöral dokuda, eNOS vasküler endotel hücrelerinde, iNOS ise makrofajlarda bulunur (18,19).

İnflamasyon ve immünitede önemli rol oynayan NO, immün, kardiyovasküler ve santral sinir sisteminde serbest radikal olarak sentezlenir (4-6). Sonraki gelişmeler NO'in, keratinositler, Langerhans hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar, melanositler ve endotel hücreleri gibi farklı hücrelerden de sentezlendiğini göstermektedir (4,6,8,9).

iNOS; özellikle inflamatuvar dermatozlarda, TNF- α , IFN- γ , IL 1, 2, 3, 6 ve granülosit-monosit stimüle edici faktörler tarafından NO'in sentezlendiği hücrelerde stimüle edilebilmektedir. Dolayısıyla; NO doku seviyeleri inflamatuvar kökeni ya da bileşeni olan dermatozlarda artacaktır (9). Imamura ve arkadaşları (20), EM'deki target lezyonların oluşumunda rol oynayan patomekanizmayı aydınlatmak için yaptıkları çalışmada, target lezyon oluşumunda perivasküler inflamatuvar hücrelerin önemli rol oynadığını göstermişlerdir. Dolayısıyla bu hücrelerden sentezlenen NO ve benzeri mediatörlerin EM patogenezinde rol oynayabilecekleri olası bir düşüncedir.

NO sentez ve salınımı, inflamasyona neden olan durumlar ve immün stimülasyonunda artar. Bundan dolayı birçok deri hastalığının patogenezinde rol oynar (4,5,8,21).

NO'in inflamatuvar durumlarda rolü olduğu kanısı ile yapılan bir çalışmada, Wanchu ve arkadaşları (22) 26 SLE hastasının serumlarında kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek serum NO değerleri saptamışlar ve NO'in hastalığın aktivitesinin bir göstergesi olabileceğini öne sürmüşlerdir. Ayrıca Bruce ve arkadaşları (23) da NO'in sistemik vaskülitlerde aşırı miktarlarda üretildiğini belirtmektedirler. Mulligan ve arkadaşları (24), NO'nun immünkompleksler

tarafından oluşturulan vasküler hasarda da görev aldığını ileri sürmüşlerdir.

Dermal endotelial ve infiltrate hücrelerdeki iNOS ekspresyonu çok büyük miktarlarda NO üretimine sebep olmaktadır. Bu olay aynı zamanda vazodilatasyonu stimüle ederek eritem ve ödem oluşumuna neden olmaktadır (19). Rowe ve arkadaşları (19) 1997 yılında atopik dermatit, allerjik kontakt dermatit ve psoriasisli hastalar üzerinde yaptıkları çalışmada, bu dermatozlarda iNOS ekspresyonunu gösterdiler.

Kliniğimizde Aktaş ve arkadaşları (25), atopik dermatitli hastalarda NO düzeylerini anlamlı dercede yüksek bularak, NO'in atopik dermatitin patogenezinde önemli bir rolü olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Lerner ve arkadaşları (10) EM major'lü yedi hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, NO üretimindeki artışın, EM'deki epidermal nekrozdan sorumlu olduğu sonucuna varmışlardır.

EM deri ve mukoz membranlara sınırlı, hedefe benzer papül ve vezikülobüllöz lezyonlarla karakterize bir tablodur. EM'nin en önemli nedeni olarak herpes simpleks virus enfeksiyonu kabul edilmektedir (26). Ayrıca etyolojide bakteriyel, mikotik, protozoal enfeksiyonlar, kollajen doku hastalıkları, internal maligniteler, aşılarda ve ilaçlar da suçlanmıştır. Eritema nodozum ve nekrotizan vaskülit gibi hastalıklarla birlikte görülebilmesi, immünolojik bir olayı düşündürülebilir (1,27). NO yüksek miktarlarda salgılandığında, doku hasarına ve hücre ölümüne neden olan potent sitotoksik bir moleküldür (4,9,28). Yaptığımız çalışmada, klinik olarak aktif EM'li hastalarda NO serum seviyeleri istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. Ancak EM'li hastalarda NO ortalama değerleri kontrol grubuna göre daha yüksek saptanmıştır. Bu durum, NO'in düşük bir olasılıkla da olsa EM'de rolünün olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle daha kapsamlı çalışmaların yararlı olabileceği kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Tüzün Y, Mat MC. Büllü hastalıklar. In: Tüzün Y, Katoğyan A, Aydemir EH, Baransü O, eds. Dermatoloji. 2. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi 1994; 353-77.
2. Jorizzo JL. Blood vessel-based inflammatory disorders. In: Moschella SL, Hurley HJ, eds. Dermatology. 3rd ed.

- Philadelphia: WB Saunders Company, 1992; 577-93.
3. Fritsch PO, Ruiz-Maldonado R. Erythema multiforme. In: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB, eds. *Dermatology in General Medicine*. 5th ed. New York: Mc Graw Hill, 1999; 636-44.
 4. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991; 43(2): 109-34.
 5. Lowenstein CJ, Synder SH. Nitric oxide, a novel biologic messenger. *Cell* 1992;70:705-7.
 6. Önder MR, Gürgün C, Yavuzgil O, Özerkan F, Nalbantgil İ. Endotel ve fonksiyonları. *Endotel Dergisi* 1997; 7-19.
 7. Morris SM, Biliar TM. New insight into the regulation of inducible nitric oxide synthase. *Am J Physiol* 1994; 226: 829-39.
 8. Goldsmith PC, Leslie TA, Hayes NA. Inhibitors of nitric oxide synthase in human skin. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 113-8.
 9. Weller R. Nitric oxide - a newly discovered chemical transmitter in human skin. *Br J Dermatol* 1997; 137: 665-72.
 10. Lerner LH, Qureshi AA, Reddy BV, Lerner EA. Nitric oxide synthase in toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome. *J Invest Dermatol* 2000; 196-9.
 11. Clancy RM, Abramson SB. Nitric oxide : a novel mediator of inflammation. *Society for Experimental Biology and Medicine* 1995; 35: 93-01.
 12. Mac Allister RJ, Vallance P. The L-arginine : Nitric oxide pathway in the human cardiovascular system. *JIFCC* 1996; 8 :158-9.
 13. Miles AM, Bohle DS, Glassbrenner PA, Hansert B, Wink DA, Grisham MB. Modulation of superoxide-dependent oxidation and hydroxylation reactions by nitric oxide. *J Biol Chem* 1996; 271: 40-7.
 14. Cooke JP, Tsao PS. Cytoprotective effects of nitric oxide. *Circulation* 1993; 88: 2451-4.
 15. Evans T, Carpenter A, Silva A, Cohen J. Inhibition of nitric oxide synthase in experimental gram-negative sepsis. *J Infect Diseases* 1994; 169: 343-9.
 16. Moshage H, Kok B, Huizenga JR. Nitrite and nitrate determination in plasma: A critical evaluation. *Clin Chem* 1995; 41: 892-6.
 17. Kızıltunç A, Akçay F, Başoğlu M, Keleş S, Avcı B, Altuntaş İ. Tavşanlarda serum antioksidan enzimler üzerine glutamin, alkol ve bazı stresor koşulların (hipoksi ve açlık) etkisi ve nitrik oksit seviyeleri. *Biyokimya Dergisi* 1997; 4: 5-12.
 18. Murray RK. Muscle. In: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwel VW, eds. *Harper's Biochemistry*. 24th ed. Appleton & Lange 1996: 686-706.
 19. Rowe A, Farrell AM, Buncer CB. Constitutive endothelial and inducible nitric oxide synthase in inflammatory dermatoses. *Br J Dermatol* 1997; 136: 18-23.
 20. Imamura S, Horio T, Yanase K, Taniguchi S, Miyachi Y, Tachibana T et al. Erythema multiforme: pathomechanism of papular erthema and target lesion. *J Dermatol* 1992; 19: 524-33.
 21. Bruch-Gerharz D, Ruzicka T, Kolb-Bachofen V. Nitric oxide and its implications in skin homeostasis and disease. *Arch Dermatol Res* 1998; 290; 643-51.
 22. Wanchu A, Khullar M, Deodhar SD, Bambery P, Sud A. Nitric oxide synthesis is increased in patients with systemic lupus erythematosus. *Int Rheumatol* 1998; 18: 41-3.
 23. Bruce IN, Harris CM, Nugent A, MaDermott BJ, Johnston GD, Bell AL. Enhanced endothelium-dependent vasodilator responses in patients with systemic vasculitis. *Scand J Rheumatol* 1997; 26: 318-24.
 24. Mulligan MS, Moncada S, Ward PA. Protective effect of inhibitors of nitric oxide synthase in immune complex-induced vasculitis. *Br J Pharmacol* 1992; 107: 1159-62.
 25. Aktaş A, Erdem T, Akdeniz N, Keleş MS, Özdemir Ş. Atopik dermatitte nitrik oksit düzeyleri. XIV. Prof. Dr. A. Lütfü Tat Simpozyumu Özet Kitapçığı 1999: 43.
 26. Scholfield JK, Tatnall FM, Leigh IM. Recurrent erythema multiforme : clinical features and treatment in a large series of patients. *Br J Dermatol* 1993; 128: 542-5.
 27. Arnold HL, Odom RB, James WD. *Andrew's Diseases of the Skin Clinical Dermatology*. 8th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1990; 131-58.
 28. Liew FY. Regulation of nitric oxide synthesis in infectious and autoimmune diseases. *Immunol Lett* 1994; 43: 95-8.