

Flowcytometrisch onderzoek van normale en pathologisch veranderde humane epidermis, in het bijzonder van psoriasis

Citation for published version (APA):

Crombag, N. H. C. M. N. (1983). *Flowcytometrisch onderzoek van normale en pathologisch veranderde humane epidermis, in het bijzonder van psoriasis*. Rijksuniversiteit Limburg.

Document status and date:

Published: 01/01/1983

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

SAMENVATTING.

In HOOFDSTUK 1 wordt een beknopt overzicht gegeven van het ziektebeeld psoriasis, waarbij slechts op enkele aspecten van dit complexe phenomeen wordt ingegaan teneinde de niet met deze aandoening bekend zijde lezer enige kennis van deze huidafwijking te bieden.

In HOOFDSTUK 2 wordt een literatuuroverzicht van in de loop der jaren toegepaste methoden ter bestudering van de celkinetiek gegeven, toegespitst op normale humane epidermis en psoriasis. De door diverse auteurs gevonden waarden voor celcyclustijden en turnovertijden van normale epidermis lopen sterk uiteen en zijn op onderdelen tegenstrijdig. Bij psoriasis zijn alle auteurs het erover eens dat de proliferatieactiviteit is verhoogd, zij het met forse verschillen in toename. De meningen over de duur van de synthesefase van een prolifererende psoriasiscel zijn tegenstrijdig. Over een verkorting van de totale celcyclustijd bij psoriasis, zij het ook weer in wisselende mate, zijn alle auteurs het eens.

De flowcytometrische onderzoeken naar celkinetische aspecten van normale en pathologisch veranderde humane epidermis zijn beperkt in de literatuur maar bieden goede mogelijkheden tot statistisch meer betrouwbaar celkinetisch onderzoek.

In HOOFDSTUK 3 wordt de in dit onderzoek gebruikte flowcytometrische methode uiteengezet. De flowcytometer, de afname techniek, de bewerking van het monster, de analyse van de gegevens en een aantal moeilijkheden bij de interpretatie worden achtereenvolgens beschreven.

In HOOFDSTUK 4 worden de DNA distributies in normale humane epidermis vermeld. De invloed van het geslacht, de leeftijd en de plaats op het lichaam is onderzocht. Tevens is gekeken naar verschillen in DNA verdeling tussen twee specifieke tijden van het jaar.

Uit de verkregen waarden is een schatting gemaakt van de turnovertijd van het levend epitheel (18,5 dagen) en de gemiddelde celcyclustijd (139 uur) van een normale keratinocyt.

In HOOFDSTUK 5 worden de DNA distributies in psoriasis vulgaris, onrustige psoriasis en psoriasis pustulosa vermeld. De onderlinge verschillen in percentage cellen in de S en G₂M fase zijn significant tussen deze drie vormen van psoriasis.

Vergeleken met normale epidermis is bij psoriasis de variatie in de individuele specimens groot. De intra- en inter-

individuele variantie alsmede de intralaesionale variantie is onderzocht. De individuele subpopulaties blijken significant meer homogeen te zijn dan de totale populatie. Binnen eenzelfde laesie zijn er in de hier onderzochte parameters geen verschillen tussen rand en centrum van de laesie.

In de klinisch niet aangetaste epidermis bij personen met psoriasis is de DNA distributie significant verschillend van die in normale epidermis en in psoriasis. Het percentage S en G_2M heeft waarden tussen die van normale huid en van psoriasis in. Ook voor een psoriasiscel is uit de verkregen waarden een schatting gemaakt van de celcyclustijd (67 uur) en de turn-overtijd (5,5 dagen).

In HOOFDSTUK 6 zijn de DNA distributies in klinisch niet aangetaste epidermis en in laesies van neurodermitis, lichen ruber planus en m. Darier onderzocht.

Bij lichen ruber planus en m. Darier is er geen verschil tussen laesie en normaal uitziende huid; bij neurodermitis is het percentage cellen in de S fase significant hoger in de laesie.

Normale epidermis verschilt in de hier onderzochte parameters niet van de normale epidermis bij deze drie huid-aandoeningen.

Neurodermitislaesies verschillen significant voor de S en G_2M fractie van de celcyclus van de overeenkomstige fracties van zowel normale epidermis bij controle personen als van psoriasislaesie.

Lichen ruber laesie verschilt niet van normale epidermis. Bij m. Darier zijn de verschillen in de onderzochte parameters van de celcyclus niet significant verschillend van die van normale epidermis.

Psoriasis verschilt in percentage S van alle drie dermatosen.

In HOOFDSTUK 7 zijn met behulp van de flowcytometer de therapie-effecten van dithranol applicatie, Goeckerman therapie, PUVA behandeling en röntgenbestraling op een psoriasislaesie bepaald.

Dithranol applicatie blijkt een asymmetrie van de rechter flank van de 2c piek te geven. Voor deze asymmetrie zijn meerdere oorzaken denkbaar. Het feit dat ook de 4c piek een asymmetrische rechter flank vertoont doet ons ertoe neigen een voorkeur uit te spreken voor de hypothese dat onder invloed van dithranol applicatie een subpopulatie keratinocyten ontstaat die een afwijkende kleuringskarakteristiek heeft.

In de psoriasiscellen afkomstig uit laesies die een Goeckerman behandeling hebben ondergaan wordt slechts een minimale daling van het percentage S en G_2M gezien.

Een éénmalige PUVA behandeling van normale epidermis geeft een tijdelijke toename van de 4c piek. Ook in psoriasiscellen treedt na dagelijks PUVA bestralingen na een individueel bepaalde tijd, een sterke stijging van de G_2M fractie op.

In de klinisch niet aangetaste epidermis blijkt de grootte van deze toename afhankelijk te zijn van het aantal Joules/cm² opgestraald UVA licht. Het therapeutische effect van PUVA lijkt te bestaan uit eliminatie in de G₂ fase van een aantal cellen uit de prolifererende populatie. Ook in de DNA histogrammen van celsuspensies van eenmalig met röntgenstralen behandelde psoriasislaesies treedt een sterke stijging van het percentage G₂M op. Na enkele dagen daalt dit percentage weer tot de uitgangswaarde. Synchroon met de toename van het aantal G₂M fase cellen ontstaat een sterke daling van het aantal DNA synthetiserende cellen. Het percentage S bereikt een minimum wanneer G₂M maximaal is en stijgt vervolgens weer. Een tweede bestraling geeft opnieuw deze effecten. Na enkele bestralingen stijgt het percentage S niet meer om uiteindelijk een niveau te bereiken van klinisch niet aangetaste epidermis bij psoriasis. Het tijdsinterval dat nodig is om de G₂M fractie weer de uitgangswaarde te laten aannemen lijkt na elke bestraling toe te nemen. De tijdelijke toename van cellen in het G₂M compartiment kan verklaard worden door aan te nemen dat een deel van de de celcyclus doorlopende celpopulatie irreversibel in de G₂ fase wordt geblokkeerd. De hieropvolgende daling wordt dan veroorzaakt door lysis of door migratie van de geblokkeerde cellen naar het huidoppervlak.

SUMMARY.

In CHAPTER 1 a short review is presented of the syndrome psoriasis. Only some aspects of this complex phenomenon are discussed.

In CHAPTER 2 a synopsis is given of the literature concerning the methods applied throughout the years, to study cell kinetics of normal human epidermis and psoriasis. Cell cycle times and turnover times of normal epidermis as calculated by different authors, differ significantly and some of the results are even contradictory. In case of psoriasis all authors agree on an increased proliferation activity, although with rather diverging values. Opinions on the duration of the S phase of a proliferative psoriatic cell are contradictory. All authors agree however that the cell cycle time of psoriatic keratinocytes is shorter, though this is difficult to establish quantitatively. The flow cytometric studies of cell kinetics of normal and pathologically changed human epidermis are rare in literature, but they offer good possibilities towards statistically more reliable cell kinetic research.

In CHAPTER 3 the flow cytometric method as used in this study is outlined. The flow cytometer, the sampling technique, the preparation of the sample, the analysis of the data and a number of difficulties in interpretation are successively described.

In CHAPTER 4 flow cytometric measurements of the DNA content are performed on a large number of skin biopsies of normal human epidermis. The influence of sex, age and body-site is examined. Moreover, differences in DNA distribution between two specific times of the year have been looked into. Crude estimations of turnover time of the viable epidermis (18,5 days) and of the mean cell cycle time (139 hours) of normal keratinocytes have been made.

In CHAPTER 5 the DNA distributions in psoriasis vulgaris, unstable psoriasis and psoriasis pustulosa are reported. The differences in percentages of cells in the S and G₂M phases are significant between these three types of psoriasis. Compared to normal skin the variation between the individual specimens is rather large. The intra- and inter-individual variance as well as the intralesional variance have been examined. The individual subpopulations are significantly more homogeneous than the total population. No significance of possible differences between rim and centre of the lesion could be detected. In uninvolved skin of patients with psoriasis the DNA distribution differs significantly from those of psoriasis lesion and normal skin. The values obtained for the percentages of S and G₂M cells of uninvolved skin are found in between those of normal

skin and psoriasis.

The turnover time of psoriatic skin (5,5 days) and the cell cycle time (67 hours) of the psoriatic keratinocytes have been estimated.

In CHAPTER 6 the DNA distributions in lesions and in uninvolved skin of patients with neurodermatitis, lichen ruber planus and morbus Darier (dyskeratosis follicularis) are presented. Lichen ruber planus and m. Darier show no difference between involved and uninvolved skin. In involved skin of neurodermatitis the percentage of S phase cells is significantly elevated.

The significance of possible differences between the involved and uninvolved skin of these three dermatoses and normal and psoriatic skin is successively discussed.

In CHAPTER 7 changes in DNA distribution in psoriatic skin during different types of therapy are investigated. During dithranol therapy a temporal asymmetry of the right flank of the 2c peak was observed. Several explanations for this phenomenon are possible. We would like to believe that application of dithranol stimulates the development of a subpopulation of psoriatic keratinocytes with abnormal colour characteristics.

Psoriatic cells treated with Goeckerman regimen show only minor changes in the percentages of cells in S and G₂M. The effect of a single dose of PUVA on normal keratinocytes is a temporal increase of the percentage 4c cells.

In psoriatic cells an increase in the percentage of G₂M was measured following daily PUVA treatments. However there were differences in individual response.

In uninvolved skin the rate of increase depends on the dose of UVA light.

The therapeutic effect of PUVA seems to consist of a removal in the G₂ phase of a part of the proliferative cells from the population.

After a single dose of x-rays we observe an increase in the percentage G₂M, reaching a maximum value after 3-4 days. Thereafter the percentage G₂M steadily drops. Synchronously a sharp decrease in the percentage S is observed, the lowest point of which coincides with the highest point of G₂M. Thereafter the percentage S increases towards its original value. A second radiation dose produces similar effects, although the maxima and minima are less marked. After several radiation doses the percentage S shows no increase anymore and will reach a level comparable to that of uninvolved psoriatic skin and it takes a longer time for the G₂M to become normal again. The temporal increase of cells in G₂M after x-ray radiation can be explained by assuming that a fraction of the cycling cells is being irreversibly blocked in the G₂ phase of the cell cycle and that the gradual removal of the blocked cells from the population is taken place by lysis or migration to the skin surface.