

Malassezia Folikülitinin Lezyon İçeriklerindeki Elastik Lifler

Elastic Fibers in the Lesion Contents of Malassezia Folliculitis

Fatih Göktay, İkbal Esen Aydingöz, Ayşe Tülin Mansur, Rıza Adaleti*, Pembegül Güneş**

Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Deri ve Zührevi Hastalıklar Kliniği, İstanbul, Türkiye

*Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

**Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

Özet

Amaç: Malassezia foliküliti (MF) tanısı başlıca klinik şüphe, direk mikroskopi, histopatoloji ve antimikotik tedavinin etkili olması ile konulur. Poliklinik pratiğimizde MF'nden şüphelendiğimiz lezyonların içeriklerinin potasyum hidroksit (KOH) ile direkt mikroskopik incelemeleri esnasında iplik benzeri yapıların (İBY) görülmesi dikkatimizi çekti. Bu çalışmada iplik benzeri bu yapıların ne olabileceği sorusuna cevap bulmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Klinik olarak MF ile uyumlu papülopüstüler lezyonlara sahip 7 hasta çalışmaya dahil edildi. Papülopüstüler lezyonların içerikleri KOH-kalkoflor beyazı (KFB) karışımı ile ışık mikroskopunda ve floresan mikroskopta incelendi. Olgulardan alınan biyopsi örnekleri PAS ile boyandı. Olgulardan birinin foliküler içeriği ve aynı olgunun 3 lezyonundan alınan biyopsi örnekleri Verhoeff van Gieson (VVG) ile boyandı. Tüm hastalar topikal ve/veya sistemik antifungal ajanlarla 1 ay süresince tedavi edildi.

Bulgular: Tüm olguların direkt mikroskopik incelemesinde İBY'lar saptandı. Ancak bu İBY 7 olgunun 5'inde KFB ile floresan boyanma gösterdi. Olguların 7'sininde lezyon içeriklerinin KFB ile incelemesinde maya hücreleri görüldü. Histopatolojik preparatların PAS boyamasında 4 olguda maya hücreleri 1 olguda ise hem maya hücreleri hem de hifa yapıları saptandı. Hem foliküler içeriklerde hem de histopatolojik kesitlerde İBY'da VVG ile boyanma saptandı. Antifungal tedaviyle tüm olguların kliniğinde gerileme görüldü.

Sonuç: Potasyum hidroksite dirençli İBY'da septa olmaması, çatallı sonlanmaların görülmesi, VVG ve KFB ile pozitif boyanma görülmesi bu yapıların elastik lif olduğunu göstermiştir. (*Türkderm 2011; 45: 29-32*)

Anahtar Kelimeler: Elastik lifler, ip benzeri yapılar, Malassezia foliküliti, ekstraselüler matriks proteinleri, mayalar

Summary

Background and Design: The diagnosis of Malassezia folliculitis (MF) is mainly based on clinical suspicion, direct microscopy, histopathology, and efficacy of antimycotic treatment. We noticed thread-like structures (TS) during potassium hydroxide (KOH) examination of pustule contents. In this study, we aimed to answer the following question: "What could these TS be?"

Material and Method: Seven patients having papulopustular lesions clinically consistent with MF were included in the study. The extracts of the papulopustular lesions were analyzed with KOH-calcofluor white (CFW) mixture by light and fluorescence microscopy. Periodic acid-Schiff (PAS) staining was also performed. The follicular contents and three biopsy specimens taken from one and the same patient were stained with Verhoeff van Gieson (VVG) method. All patients were treated with topical and/or systemic antifungal agents for one month.

Results: TS were detected by direct microscopy in all cases, but were stained with CFW in 5 out of 7 patients. In all of patients, yeast cells were detected with CFW. PAS staining showed solely yeast cells in 2 out of 7 cases, while yeast cells and hyphae were found only in one. VVG stained TS both in the follicular contents and in histopathologic sections. Clinical improvement with antifungal therapy was observed in all cases.

Conclusion: The absence of septae within these KOH-resistant filamentous structures, the presence of split endings and the positive staining with VVG and CFW strongly suggested that these structures should be elastic fibers. (*Turkderm 2011; 45: 29-32*)

Key Words: Elastic fibers, thread-like structures, Malassezia folliculitis, extracellular matrix proteins, yeasts

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Fatih Göktay, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Dermatoloji Kliniği, Üsküdar 34668, İstanbul, Türkiye. Tel.: +90 216 414 45 02-1049 E-posta: fatihgoktay@yahoo.com

Geliş Tarihi/Received: 15.04.2010 **Kabul Tarihi/Accepted:** 08.07.2010

*Türkderm-Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır.
Turkderm-Archives of the Turkish Dermatology and Venerology, published by Galenos Publishing.*



Giriş

Malassezia foliküliti (MF) göğüste, sırtta, omuzlarda, boyunda ve nadiren de yüzde yerleşen, kaşıntılı foliküler papül ve püstüllerle karakterizedir. Patojenik mikroorganizmalar Malassezia furfur ve muhtemelen diğer Malassezia türleridir^{1,2}. Geçmişte bu organizmaların maya fazı pityrosporum, hifa fazı ise malassezia olarak tanımlanmıştır. 1986'da her iki faz da malassezia olarak kabul edilmiştir³. Hastalık gençlerde ve orta yaş erişkinlerde daha sık görülür⁴. Tanı başlıca klinik şüphe, direk mikroskopik inceleme, histopatoloji ve antimikotik tedaviye yanıt alınması ile konulmaktadır⁴.

Poliklinik uygulamalarımız sırasında klinik olarak MF ile uyumlu kaşıntılı papülopüstüler lezyonların içeriklerinin neredeyse tamamının potasyum hidroksit (KOH) ile direk mikroskopik incelemesinde iplik benzeri yapılar (İBY) saptadık. Bu çalışmada İBY'ların ne olduğu sorusunu cevaplamayı amaçladık.

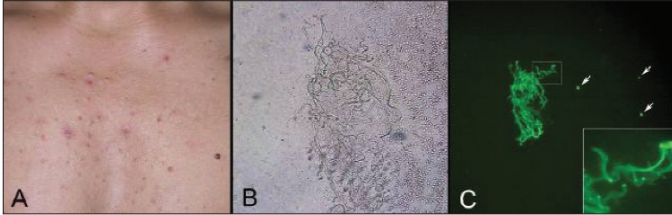
Gereç ve Yöntem

Çalışma Grubu

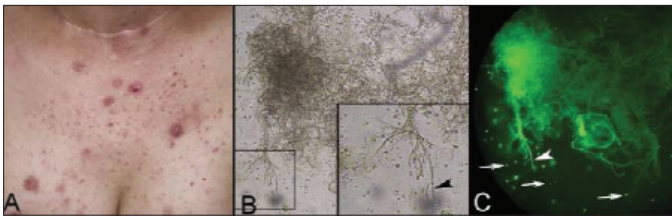
Klinik olarak MF ile uyumlu lezyonlara sahip 7 hasta (Resim 1a, 2a) çalışmaya dahil edildi. Yaşları 14-33 arasında değişen (ort: 21,57) hastaların 6'sı kadın, 1'i erkekti.

Potasyum Hidroksit-Kalkoflor Beyazı Karışım Solüsyonu ile Direk Mikroskopi ve Floresan Mikroskopi

Hastaların lezyonlarının içerikleri bir komedon ekstraktörü yardımıyla alınarak lam üzerine konuldu. Preparata 1 damla %15 KOH ve 1 damla kalkoflor beyazı (KFB) solüsyonu (%0,05, Sigma) eklendi. Materyal lamel ile kapatıldı.



Resim 1. A) Hasta 3'ün göğüs üst bölgesinde yerleşen karakteristik MF papülleri. B) Hastanın lezyon içeriklerinde bulunan İBY. (Potasyum hidroksit; orijinal büyütme: X400). C) İBY'nin ve Malassezia mayalarının yeşil floresansı (oklar). (Kalkoflor beyazı; orijinal büyütme: X200; yakın görünüm, X400)



Resim 2. A) Pemfigus vulgarisli hastanın üst göğüs bölgesinde yerleşen belirgin eritematöz MF papülleri. B) Çok miktarda İBY'nin ışık mikroskopik görünümü. (Potasyum hidroksit; orijinal büyütme: X400) Yakın görünümde elastik lifler için karakteristik çatallı sonlanmalar görülmektedir. (ok başı) C) KFB ile incelemede karakteristik çatallı sonlanmalar (ok başı) ve Malassezia mayalarının yeşil floresansı (oklar). (Kalkoflor beyazı; orijinal büyütme, X200)

Preparat, materyal çözülene kadar 5 dakika beklemeye bırakıldı. Preparatlar öncelikle ışık mikroskopisinde 200X ve 400X büyütmelemlerle incelendi. İplik benzeri yapıların görüldüğü preparatlar aynı zamanda floresan mikroskopi (Olympus BH2-RFCA with BH2-UCD filter, JAPAN) ile de incelendi. Kalkoflor beyazı lezyon içeriklerinde fungal yapıların olup olmadığını ve İBY'nin floresan verip vermediğini saptamak amacıyla kullanıldı.

Histopatoloji

Klinik olarak MF ile uyumlu papüler bir lezyondan 4 mm punch aleti ile biyopsi yapıldı. Histolojik kesitler hematoxylin-eozin ve periodik asit Schiff (PAS) ile boyandı. Bir olguda ise hem komedon ekstraktörü ile elde edilen folikül içeriği hem de aynı hastanın 3 lezyonundan alınan biyopsi örneği Verhoeff van Gieson (VVG) ile boyandı. Birkaç papülden elde edilen foliküler içerik cam tüp içindeki %15 KOH içine konuldu. Oda ısısında 60 dakika beklendikten sonra santrifüj ile materyal çöktürüldü. Çöken materyal lam üzerine yayılarak alkolde fiks edildikten sonra VVG ile boyandı. Bütün örnekler bir patolog tarafından değerlendirildi.

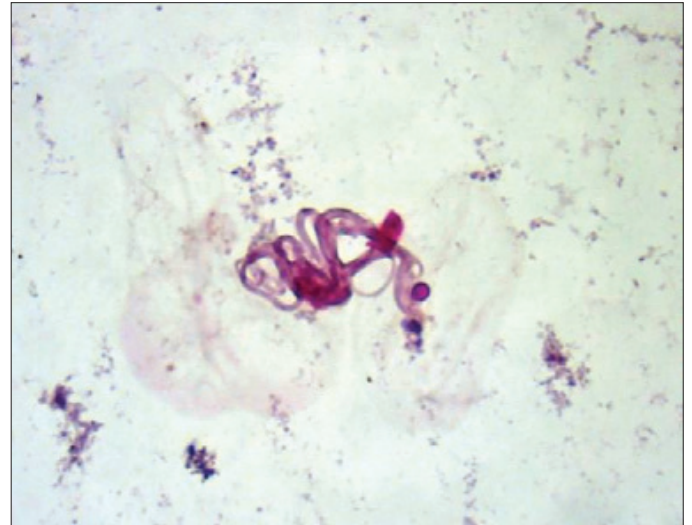
Tedavi

Tüm hastalar hastalıklarının şiddetine göre topikal ketokonazol krem, şampuan ya da sistemik itrokonazol ile 1 ay boyunca tedavi edildi.

Bulgular

Hastaların şikayet süreleri 4 gün ile 24 ay (ort: 284 gün) arasındaydı. Hastaların klinik ve demografik özellikleri Tablo 1'de özetlenmiştir. Yedi hastanın 5'i kaşıntıdan şikayet ediyordu. Işık mikroskopik incelemeyle tüm olguların foliküler içeriklerinde İBY görüldü. (Resim 1b, 2b) Floresan mikroskopik incelemede 7 olgunun hepsinin lezyon içeriklerinde elma yeşili floresan veren yuvarlak maya yapıları görülürken, 5 olguda İBY'nin elma yeşili floresan verdiği saptandı. (Resim 1c, 2c) Histopatolojik incelemede PAS boyama ile 4 olguda maya hücreleri, 1 olguda ise hem maya hem de hifa yapıları görüldü. Foliküler içeriklerdeki (Resim 3) ve histopatolojik kesitlerdeki İBY'lar (Resim 4, 5, 6) VVG ile pozitif boyandı.

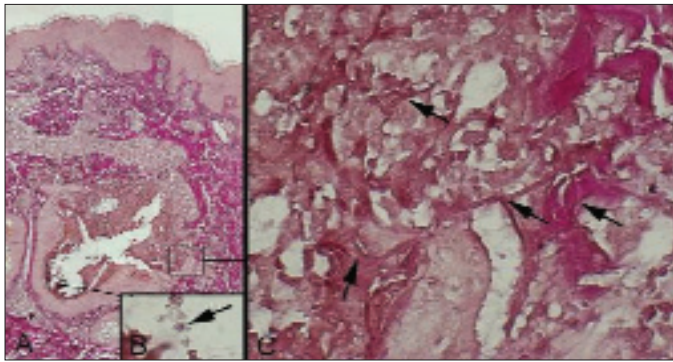
Antifungal tedavinin 1. ayında tüm hastaların lezyonlarında gerileme saptandı.



Resim 3. Birkaç lezyonun içeriğinden %15 KOH solüsyonunda çözülerek hazırlanan preparatta VVG ile boyanan İBY ve bir Malassezia mayası. (Verhoeff van Gieson; orijinal büyütme, X400)

Tartışma

Malassezia folikülüti klinik olarak kaşıntılı, monomorfik, eritematöz, 1-2 mm çaplarında foliküler papül ve püstüllerle karakterizedir^{1,2}. Hastalığın tanısında maya elemanlarının saptanması için çeşitli boyama teknikleri tanımlanmıştır. Malassezia folikülütinin direk mikroskopik incelemesinde KOH'in tek başına kullanılması önerilmemektedir. KOH ile karıştırılmış mavi-siyah mürekkeple yapılan incelemede kalın, yuvarlak, çift duvarlı, monopolar tomurcuklanan mayalar görülür. Bu yöntemle pitiriazis versikolorunda hızlı ve güçlü bir boyanma sağlanabilirken MF'de boyanma daha yavaş ve düzensizdir. Bu yüzden boyanın etki gösterebilmesi için hazırlanan preparatta birkaç saat beklemeye bırakılması ya da daha selektif bir yöntem olan KFB'nın kullanılması önerilmektedir. Bu yöntemin uygulanması için floresan mikroskobu gerekir; görüntüleme hızlıdır ve mükemmel sonuçlar verir⁵. Histopatolojik incelemede seri kesitler yapılmadıkça mantar yapıları her zaman görülememektedir⁶. Bu çalışmada MF tanısı karakteristik klinik özellikler, antifungal tedaviye yanıt ve KFB ile tüm olguların preparatlarında yuvarlak mayaların görülmesiyle konulmuştur.



Resim 4. A) Foliküler dilatasyon, intrafoliküler nekrotik debris, perifoliküler süpüratif inflamasyon (Verhoeff van Gieson; orijinal büyütme, X100). B) Folikül içinde yerleşen Malassezia mayaları (Verhoeff van Gieson; orijinal büyütme, X600). C) İntakt bağ doku yanında bulunan süpüratif inflamatuvar alandaki çatallanan elastik lifler (oklar) (Verhoeff van Gieson; orijinal büyütme, X600)

Poliklinik çalışmalarımız esnasında, klinik olarak MF (Resim 1a, 2a) düşündüğümüz lezyonların içeriklerinde KOH ile yaptığımız direk incelemelerde İBY (Resim 1b, 2b) dikkatimizi çekmişti. Bu yapılar uzun süre beklenmesine rağmen KOH'e direnç gösteriyor ve parçalanmıyordu. Bu filamentlerden bazılarının uçlarında çatallı sonlanmalar vardı. Hifaya benzemeleri nedeniyle ilk olarak bu yapıların Malassezia ailesine ait fungal elementler olabileceğini düşündük. Floresan mikroskopta KFB ile bu yapıların floresan boyanma gösterip göstermediklerine baktık. Bu yöntemle 7 olgunun 5'inde yeşil renkli floresans saptadık (Resim 1c, 2c). Aynı preparatlarda yeşil floresan veren çok sayıda yuvarlak mayalar da görüldü. İp benzeri yapıların klasik Malassezia hifalarını andırmaması ve septalarının olmaması nedeniyle KFB ile boyanmanın nonspesifik olduğu düşünüldü.

Nekrotizan pnömonili hastaların balgamlarında KOH'e dirençli refraktif liflerin olduğu 1846 yılında tanımlanmış ve bu bulgunun hastalığın ayırıcı tanısında yararlı olduğu gösterilmiştir⁷. Schlaes ve ark.⁸ 1983 yılında sitokimyasal, elektron mikroskopik ve elastaz sindirimi yöntemleriyle yaptıkları çalışmalarında bu liflerin elastik lifler olduğu sonucuna varmışlardır. Yazarlar çalışmalarında, ışık mikroskopuyla 400X büyütmede bu liflerin uçlarında elastik lifler için karakteristik olan çatallı sonlanmaların varlığını göstermişlerdir. Günümüzde özellikle akciğer, kan damarları ve deri gibi bazı dokulardaki elastik ve kollajen liflerin KFB'na bağlandığı ve parlak bir floresans gösterdiği bilinmektedir⁹. Çalışmamızda bu filamentöz yapıların histokimyasal olarak VVG'la da boyandığı görüldü (Resim 3).

İBY'nin septalarının olmaması, karakteristik çatallı sonlanmalar göstermesi, KFB'ı ile pozitif boyanması ve nekrotizan pnömonili hastaların balgamlarında saptanan elastik ile morfolojik benzerlik göstermesi, KOH'le yapılarının bozulmaması ve VVG ile boyanması bu yapıların elastik lif olduğu tezini güçlendirmiştir. Yedi olgunun 2'sinde elastik liflerde floresansın olmaması KFB'ı ile nonspesifik boyanmanın hızla kaybolması ya da KFB'ı ile elastik lifler arasında bağlanmanın gerçekleşmemesi ile açıklanabilir.

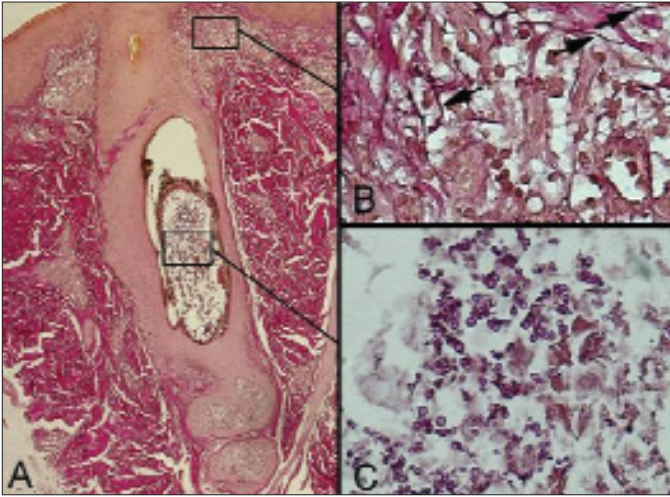
Malassezia folikülütinin lezyon içeriğinde elastik lif varlığı ilginç ve açıklanması zor bir durumdur. Üst dermisteki elastik liflerin özellikle epitelyal kök kılıfı ve sebace bezleri çevreleyen hücrelerden kaynaklandığı düşünülebilir. Ultraviyole maruziyetinin kıl foliküllerinin etrafını saran elastik liflerin sayısını ve ebadını arttırdığı daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir¹⁰.

Tablo 1. Malassezia folikülütlü hastaların özellikleri

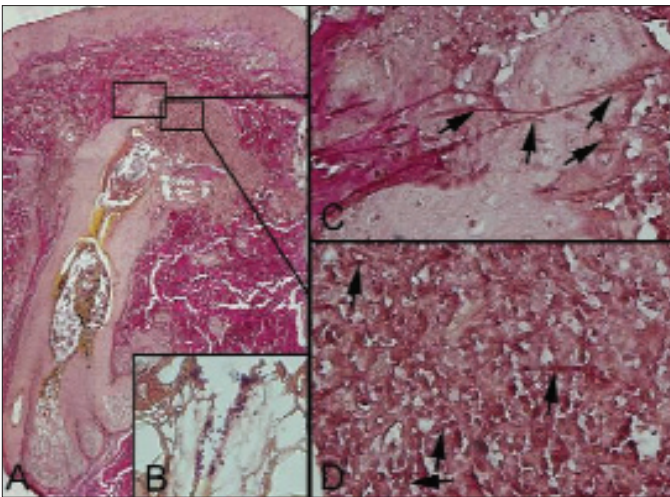
Hasta No.	Yaş	Cins	Hastalık süresi	Lezyonların yerleşimi	Kaşıntı	Eşlik eden hastalıklar	KOH preparatında İBY	KOH+KFB ile floresans		PAS	
								Maya	İBY	Hifa	Maya
1	16	K	18 ay	Sırt, göğüs, üst kollar, omuzlar, boyun	+	Hirsutizm, seboreik dermatit	+	+	-	-	-
2	14	K	18 ay	Sırt, göğüs, omuzlar, boyun	+	Hiperhidroz	+	+	+	-	+
3	17	E	4 ay	Sırt, göğüs, üst kollar, omuzlar, boyun	+	-	+	+	+	-	-
4	18	K	4 gün	Omuzlar, üst kollar	+	Seboreik dermatit	+	+	+	-	+
5	33	K	8 gün	Sırt, göğüs, üst kollar, omuzlar, boyun	-	Pemfigus vulgaris, hiperhidroz	+	+	+	+	+
6	21	K	2 ay	Sırt, göğüs, üst kollar, omuzlar, boyun	-	Ürtiker	+	+	+	-	-
7	33	K	24 ay	Sırt, göğüs, üst kollar, omuzlar	+	Seboreik dermatit, Piyelonefrit, depresyon, lomber disk hernisi	+	+	-	-	+

K: Kadın, E: Erkek, KOH: Potasyum hidroksit, İBY: İp benzeri yapılar, KFB: Kalkoflor beyazı, PAS: Periyodik asit Schiff

Perforan foliküler inflamasyona neden olduğu bilinen MF bu liflerin transfoliküler eliminasyonuna neden olabilir. Bir başka varsayım ise Malassezia mayalarının elastik lif sentezini arttırmasıdır. Baroni ve ark¹¹. Malassezia furfur'un insan keratinositlerinde sentezlenen sitokinlerden IL-1 α 'ı azalttığını, IL-6 ve TNF- α 'ı inhibe ettiğini ve IL-10 ve TGF- β 'ı arttırdığını göstermiştir. Bu çalışmaya göre yazarlar, IL-1 α , IL-6 ve TNF- α 'nın baskılanmasının Malassezia'nın konak hücrelerle birlikte yaşamasına imkan sağladığı görüşünü ileri sürmüşlerdir. Bu anti-inflamatuvar aktivite elastik lifleri de içeren bağ dokusunun hızla yıkımını da inhibe edebilir. Bunun yanısıra TNF- α 'nın elastik mRNA miktarını azalttığı, TGF- β 'nin ise insan elastik mRNA'sını 30 kata kadar arttırdığı bildirilmiştir¹². Böylece, malassezia folikülitindeki keratinositlerden



Resim 5. A) Foliküler dilatasyon ve papiller ve orta dermiste yüzeyel perifoliküler inflamasyon. (Verhoeff van Gieson; orijinal büyütme, X100). B) Üst dermiste fragmente ve çatallı elastik lifler. (Verhoeff van Gieson; orijinal büyütme, X400). C) Bol miktarda intrafoliküler Malassezia mayaları. (Verhoeff van Gieson; orijinal büyütme, X600)



Resim 6. A) Yüzeyel perifoliküler inflamasyon, foliküler dilatasyon ve rüptür. (Verhoeff van Gieson; orijinal büyütme, X100) B) Aynı örneğin farklı bir kesitinden elde edilen resimde foliküler ostiyumda yerleşmiş Malassezia mayaları. (Verhoeff van Gieson; orijinal büyütme, X600). C) İntakt bağ dokuya komşu bölgede yerleşen çatallı elastik lifler. Verhoeff van Gieson; orijinal büyütme, X400). D) Süpüratif inflamatuvar bölgede elastik lifler. (Verhoeff van Gieson; orijinal büyütme, X400)

salınan TGF- β 'nin elastik sentezini arttırması mümkündür. Çalışmamızda metilprednizolon ve azatioprin kullanmakta olan 5. hastanın lezyon içeriklerindeki elastik liflerin ve Malassezia mayalarının daha fazla miktarda olduğunu gözlemledik. Maya ve elastik lif miktarı arasındaki bu korelasyon bulgusu Malassezia'nın elastik lifler üzerinde stimulan bir etkisi olduğunu düşündürülebilir.

Çalışmamızda liflerin morfolojik olarak lokalizasyonunu araştırmak için MF lezyonlarının biyopsi örneklerini hematoksilen-eozin ve VVG ile boyadık. Özellikle üst perifoliküler alanlarda belirgin bir inflamasyon vardı. İnflamatuvar hücrelerin, başlıca lenfositler, polimorfonükleer lökositler, makrofajlar ve multinükleer dev hücrelerden oluştuğu görüldü. VVG boyamada folikülleri çevreleyen dejeneratif alanlar ve komşuluğunda da göreceli olarak daha az etkilenmiş alanlar mevcuttu. Göreceli olarak korunmuş alanlarda çatallı sonlanan elastik lifler hala kolayca seçilebiliyordu. Dejeneratif alanlarda ise inflamasyon nedeniyle parçalanmış elastik liflerin korunmuş alanlardaki liflere kıyasla daha soluk boyandığı dikkati çekti (Resim 4, 5, 6). Bu bulgular, lezyon içeriklerini komedon ekstraktörü ile boşaltırken elastik lifleri de içeren dejeneratif alanların kopup gelmiş olabileceği şeklinde yorumlandı. Sonuç olarak, Pubmed veritabanına göre çalışmamız, MF lezyonlarının içinde İBY'leri gösteren ve bu yapıların elastik lif olduğunu saptayan ilk çalışmadır. Malassezia folikülitinin tanısına yönelik yapılan KOH ile direkt mikroskopik incelemede görülen İBY'nin mantar elemanı olmadığını bilinmesi preparatın değerlendirilmesine katkı sağlayacaktır. Diğer taraftan, inflamatuvar ya da infektif foliküler hastalıkların lezyon içeriklerinde de bu liflerin olabileceği gözönünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle lezyon içeriklerinde bulunan elastik liflerin MF'nde tanınması değerinin olup olmadığı bu konuda yapılacak karşılaştırmalı çalışmalarla ortaya çıkacaktır.

Kaynaklar

1. Ertam İ, Aytimur D: Malassezia spp. ve dermatolojideki yeri. *Türkderm* 2006;40:7-10.
2. Ayers K, Sweeney SM, Wiss K: Pityrosporum folliculitis: diagnosis and management in 6 female adolescents with acne vulgaris. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2005;159:64-7.
3. Ashbee HR, Evans EG: Immunology of diseases associated with Malassezia species. *Clin Microbiol Rev* 2002;15:21-57.
4. Back O, Faergemann J, Hornqvist R: Pityrosporum folliculitis: a common disease of the young and middle-aged. *J Am Acad Dermatol* 1985;12:56-61.
5. Crespo Erchiga V, Delgado Florencio V: Malassezia species in skin diseases. *Curr Opin Infect Dis* 2002;15:133-42.
6. Yu HJ, Lee SK, Son SJ, Kim YS, Yang HY, Kim JH: Steroid acne vs. Pityrosporum folliculitis: the incidence of Pityrosporum ovale and the effect of antifungal drugs in steroid acne. *Int J Dermatol* 1998;37:772-7.
7. Schroder van der Kolk JLC: The presence of elastic fibers in the sputum of phthistics as a sure sign of a necrotic process. *Ned Lancet* 1845-46;2:401-34.
8. Shlaes DM, Lederman M, Chmielewski R, Tweardy D, Wolinsky E: Elastic fibers in the sputum of patients with necrotizing pneumonia. *Chest* 1983;83:885-9.
9. Brian J, Harrington GJH: Calcofluor White: A Review of its Uses and Applications in Clinical Mycology and Parasitology. *Lab Med* 2003;34:361-7.
10. Starcher B, Pierce R, Hinek A: UVB irradiation stimulates deposition of new elastic fibers by modified epithelial cells surrounding the hair follicles and sebaceous glands in mice. *J Invest Dermatol* 1999;112:450-5.
11. Baroni A, Perfetto B, Paoletti I, et al.: Malassezia furfur invasive-ness in a keratinocyte cell line (HaCat): effects on cytoskeleton and on adhesion molecule and cytokine expression. *Arch Dermatol Res* 2001;293:414-9.
12. Uitto J, Rosenbloom J: Elastic fibers. *Dermatology in general medicine*. Ed. Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, et al. 5'inci baskı. New York, McGraw-Hill 1999;261-71.