

# Porównanie stężenia czynnika wzrostowego komórek pnia (SCF) w osoczu i hodowlach fibroblastów u chorych na twardzinę układową i mastocytozę układową

## *Stem cell factor levels (SCF) in plasma and fibroblast cultures of scleroderma or systemic mastocytosis patients*

ANNA ZALEWSKA<sup>1</sup>, JANINA WYCZÓŁKOWSKA<sup>2</sup>, BOŻENA DZIANKOWSKA-BARTKOWIAK<sup>3</sup>, ANNA SYSA-JĘDRZEJOWSKA<sup>1</sup>, JOANNA NARBUTT<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierownik Katedry i Kliniki prof. dr hab. med. A. Sysa-Jędrzejowska

<sup>2</sup>Centrum Biologii Medycznej w Łodzi, dyrektor Centrum prof. dr hab. med. C. Cierniewski

<sup>3</sup>Zakład Immunodermatologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, kierownik Zakładu prof. dr hab. med. Elżbieta Waszczykowska

### **Abstract**

*Stem cell factor (SCF) is a pleiotropic cytokine, in the skin released mainly by fibroblasts and endothelial cells. It was demonstrated that SCF exerts stimulatory effect on human mast cells, which are in turn postulated to be involved in pathomechanism of scleroderma, whereas those cells are of key importance in the course of mastocytosis. So, the aim of this study was to evaluate SCF levels in plasma and fibroblast cultures obtained from scleroderma and systemic mastocytosis patients in comparison to healthy controls. The study comprised 20 patients with scleroderma, 20 with mastocytosis and 40 healthy volunteers. SCF levels were measured by ELISA.*

*SCF plasma levels in mastocytosis patients were significantly lower than in scleroderma and the control group (mean  $\pm$  SD) and were 1335.5 $\pm$ 138.6 pg/ml vs 1709.4 $\pm$ 494.9 pg/ml ( $p < 0.01$ ) and vs 1592.5 $\pm$ 270.2 pg/ml ( $p < 0.001$ ), respectively. There was no statistically significant difference in SCF plasma levels between scleroderma patients and the control group ( $p > 0.05$ ). It was also noted that SCF levels in mastocytosis fibroblast cultures were significantly lower than in scleroderma cultures and were (mean  $\pm$  SD) 15.8 $\pm$ 9.6 pg/ml vs 30.6 $\pm$ 16.6 pg/ml ( $p < 0.05$ ). However, no statistically signi-*

### **Streszczenie**

*Czynnik wzrostowy komórek pnia (stem cell factor – SCF) jest cytokiną o wielokierunkowym działaniu, uwalnianą w skórze m.in. przez keratynocyty, fibroblasty, komórki śródbłonka i komórki tuczne. Wykazano również jego działanie stymulujące na mastocyty. Komórki te pełnią kluczową rolę w patogenezie mastocytoz, a także biorą udział w rozwoju twardziny. Dlatego też celem obecnej pracy była ocena i porównanie stężenia SCF w osoczu chorych oraz w hodowlach fibroblastów uzyskanych od pacjentów z twardziną i mastocytozą.*

*Badaniem objęto 20 pacjentów z twardziną układową, 20 z mastocytozą układową oraz 40 zdrowych ochotników, stanowiących grupę kontrolną. Stężenie SCF w osoczu i supernatantach oznaczano metodą ELISA. Wykazano, że stężenie SCF w osoczu chorych z mastocytozą (średnia  $\pm$  SD: 1335,5 $\pm$ 138,6 pg/ml) było istotnie niższe w porównaniu z chorymi z twardziną (1709,4 $\pm$ 494,9 pg/ml;  $p < 0,01$ ) i grupą kontrolną (1592,5 $\pm$ 270,2 pg/ml;  $p < 0,001$ ). Nie stwierdzono istotnych różnic w stężeniu SCF w osoczu chorych z twardziną w stosunku do grupy kontrolnej ( $p > 0,05$ ). Wykazano, że stężenie SCF w hodowlach fibroblastów uzyskanych od chorych z mastocytozą było istotnie niższe niż u chorych z twardziną i wynosiło odp-*

Adres do korespondencji: dr med. Anna Zalewska, Katedra i Klinika Dermatologii i Wenerologii, Uniwersytet Medyczny, ul. Krzemieniecka 5, 94-017 Łódź, tel. +48 42 686 79 81, faks +48 42 688 45 65, e-mail: anuciazalewska@hotmail.com

ficany difference between SCF levels in fibroblast cultures from the patients in comparison to the control group were observed ( $p > 0.05$ ). What is more, statistically significant negative correlation between SCF plasma levels in scleroderma patients and severity of the disease assessed by Total Skin Score (TSS) scale together with disease duration was demonstrated ( $p < 0.05$ ). The obtained results point out at some disturbances in SCF in mastocytosis however, they seem not to be of crucial importance either in mastocytosis or in scleroderma development.

**Key words:** stem cell factor, SCF, kit ligand, KIT, scleroderma, systemic mastocytosis, fibroblasts, mast cells.

wiednio (średnia  $\pm$  SD)  $15,8 \pm 9,6$  pg/ml vs  $30,6 \pm 16,6$  pg/ml ( $p < 0,05$ ). Nie obserwowano statystycznie istotnej różnicy pomiędzy stężeniem SCF w hodowlach fibroblastów od chorych a grupą kontrolną ( $p > 0,05$ ). Występowała statystycznie istotna ujemna korelacja pomiędzy stężeniem SCF w osoczu chorych z twardziną a czasem trwania choroby oraz nasileniem procesu chorobowego, ocenianego wg skali TSS (Total Skin Score) ( $p < 0,05$ ). Uzyskane wyniki wskazują wprawdzie na występowanie zaburzeń syntezy SCF u chorych z mastocytozą, nie wydaje się jednak, żeby pełniły one istotną rolę w patogeniezie mastocytozy czy twardziny układowej.

**Słowa kluczowe:** czynnik wzrostowy komórek pnia, SCF, kit ligand, KIT, twardzina układowa, mastocytoza, fibroblasty, komórki tuczne.

(PDiA 2005; XXII, 4: 161–166)

## Wprowadzenie

Czynnik wzrostowy komórek pnia (*stem cell factor* – SCF) jest cytokiną o wielokierunkowym działaniu, wydzielaną przez komórki podścieliska szpiku, eozynofile, keratynocyty, limfocyty T, hepatocyty, komórki śródbłonna, fibroblasty i komórki tuczne [1–5]. W tkance łącznej, SCF uwalniany w znacznych ilościach przez fibroblasty, oddziałuje na komórki tuczne, które z kolei za pośrednictwem m.in. histaminy, czynnika martwicy nowotworu alfa (TNF- $\alpha$ ) i tryptazy stymulują proliferację fibroblastów i zwiększają syntezę kolagenu [6–15].

SCF został wyizolowany i po raz pierwszy opisany w 1990 r. [16, 17]. Ludzki SCF składa się ze 165 aminokwasów i jest nieglikozylovanym dimerem o masie cząsteczkowej 36 kDa [18]. W warunkach naturalnych obserwuje się 2 postaci tej cytokiny, tj. komórkową i rozpuszczalną [18, 19]. Receptor dla SCF, zwany c-kit, występuje na komórkach krwiotwórczych, pierwotnych komórkach zarodkowych, melanocytach i komórkach tucznych [2, 19]. Najsilniejsze działanie SCF obserwuje się w stosunku do komórek macierzystych CD34+, do których należą m.in. komórki tuczne [20].

Twardzina jest chorobą o podłożu autoimmunologicznym, której cechą charakterystyczną jest nadmierne włóknienie w obrębie skóry oraz narządów wewnętrznych, do którego dochodzi w wyniku wzmożonej aktywności fibroblastów [21, 22]. Liczne prace wskazują także nie tylko na udział komórek tucznych w patomechanizmie rozwoju twardziny [23, 24], ale również na występowanie wzajemnych interakcji pomiędzy mastocytami i fibroblastami [25, 26]. Claman [25] u chorego z twardziną układową o gwałtownym przebiegu obserwował liczne komórki tuczne, wykazujące cechy nadmiernej aktywacji. Wielu autorów zwracało uwagę na występowanie znacznych ilości mastocytów u chorych

na twardzinę, trwającą nie dłużej niż 3 lata [23, 24, 27–30]. Wykazano również podwyższone poziomy histaminy, głównej substancji wydzielanej przez komórki tuczne, w niektórych dermatozach i procesach patologicznych przebiegających z włóknieniem (m.in. w twardzinie, keloidach, przerostach bliznach) [31–34]. Stwierdzono, że wzrost ekspresji SCF na fibroblastach stymuluje hiperplazję komórek tucznych i ich udział w rozwoju włóknienia w obrębie skóry [32].

Komórki tuczne są kluczowymi elementami w patogeniezie mastocytozy [35, 36], której rozpoznanie opiera się głównie na stwierdzeniu zwiększonej liczby tych komórek w danym narządzie [26, 37–39]. W badaniach na zwierzętach stwierdzono, że podskórne iniekcje rekombinantowego SCF powodowały znaczne, nawet 150-krotne, zwiększenie liczby komórek tucznych w miejscu podania tej cytokiny, czego klinicznym wyrazem był rozwój zmian imitujących ognisko mastocytozy [40]. SCF jest najważniejszą, jak dotąd, cytokiną odpowiedzialną za rozwój i różnicowanie się ludzkich komórek tucznych [39, 41]. Badania immunohistochemiczne wykazały obecność SCF w obrębie komórek tucznych w zmianach chorobowych w mastocytozie [41, 42]. Ponadto Kambe i Miyachi [43] wykazali bardzo znaczne zwiększenie proliferacji komórek tucznych uzyskanych ze skóry w obecności SCF. Badacze ci wnioskowali, że nadmierna miejscowa produkcja tej cytokiny może spowodować nasilenie proliferacji komórek tucznych [43, 44].

## Cel pracy

Celem pracy była ocena i porównanie stężeń rozpuszczalnego SCF w osoczu oraz w hodowlach fibroblastów uzyskanych od chorych na twardzinę układową o typie *limited* (lSSc) oraz mastocytozę układową (MU).

## Material i metody

Do badań zakwalifikowano 20 pacjentów z ISSc, u których ze względu na przebieg choroby przewlekłe stosowano leki rozszerzające naczynia oraz witaminę E, 20 chorych z MU, którzy nie stosowali żadnego leczenia ogólnego oraz 40 zdrowych ochotników. U pacjentów z MU oprócz zmian skórnych pod postacią pokrzywki barwnikowej obecne były także skupiska komórek tucznych w szpiku kostnym. Klinikną charakterystykę pacjentów i zdrowych ochotników przedstawia tab. 1. Ocenę ciężkości procesu chorobowego w twardzinie przeprowadzono za pomocą skali TSS (*Total Skin Score*; zakres 0–66 pkt) [45]. Średnie wartości wieku pacjentów nie różniły się w sposób statystycznie istotny pomiędzy chorymi z ISSc a grupą kontrolną ( $t=1,497$ ;  $p>0,05$ ) oraz pomiędzy chorymi z MU a grupą kontrolną ( $t=0,643$ ;  $p>0,05$ ), natomiast różnice istotne statystycznie występowały pomiędzy pacjentami z ISSc i MU ( $t=2,602$ ;  $p<0,05$ ).

Od pacjentów i ochotników pobierano krew żylną w ilości 5 ml oraz wycinki skóry w znieczuleniu miejscowym 2% roztworem lignokainy bez adrenaliny za pomocą biopsji sztanconej o średnicy 4 mm. Wycinki pobierano z okolicy bocznej lewego przedramienia, ze zmiany chorobowej o typie pokrzywki barwnikowej u chorych z MU oraz ok. 2 cm przyśrodkowo od brzegu stwardnień u pacjentów z ISSc, a także ze zdrowej skóry o podobnym umiejscowieniu u ochotników. Następnie uzyskaną tkankę trawiono w temp. 37°C przez 24 godz. w medium zawierającym 0,25% kolagenazy oraz 0,05% dezoksyrybonukleazy I (Sigma BioSciences, St. Louis, USA) z dodatkiem 1 ml medium MEM (Biomed, Lublin) wzbogaconego 20-% roztworem cielęcej surowicy płodowej (FCS, Hungarpol, Warszawa), 25 mM roztworu HEPES, 2 mM L-glutaminy, 100 units/ml penicyliny oraz 100 µg/ml streptomycyny (tj. pełne podłoże MEM). Po 24 godz. trawienia uzyskaną zawiesinę komórek przenoszono do butelek hodowlanych i dodawano 5 ml pełnego medium MEM, a następnie hodowano w cieplarni przy 5-% zawartości CO<sub>2</sub>

oraz w 95-% wilgotności. Zmiany medium dokonywano 3 razy w tyg. Do ostatniej zmiany medium przed pomiarami nie dodawano FCS, gdyż zgodnie ze wskazówkami producenta jego obecność mogła spowodować fałszywe zawyżenie poziomu SCF. Po uzyskaniu hodowli w miarę równo pokrywającej dno butelki hodowlanej przeprowadzano trypsynizację w celu policzenia uzyskanych komórek. Do badań zostały użyte supernatanty z pierwszego pasażu, które następnie zamrażano w temp. -20°C do momentu przeprowadzenia oznaczeń. Każde z oznaczeń wykonano 2-krotnie, a wyniki przeliczano na 100 tys. uzyskanych fibroblastów na ml.

Krew pobierano na EDTA i w ciągu 30 min odwirowywano (1 000 x g), następnie uzyskane osocze zamrażano w temp. -20°C w celu przeprowadzenia wszystkich oznaczeń jednocześnie.

Stężenie SCF w osoczu i supernatantach oznaczano za pomocą komercyjnych zestawów ELISA (R&D Systems Inc, Minneapolis, USA). Minimalne wykrywalne stężenie tej cytokiny wynosiło 9 pg/ml.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetyki UM w Łodzi.

## Analiza statystyczna

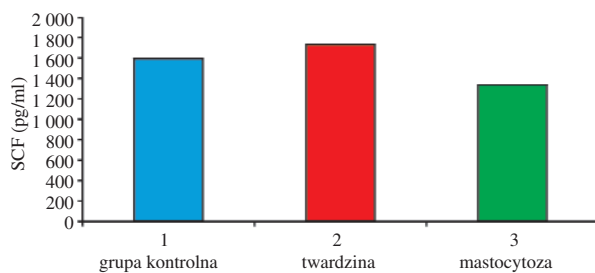
W obliczeniach statystycznych wykorzystano średnią ( $\bar{x}$ ), minimum (min), maksimum (max), odchylenie standardowe (SD), współczynnik zmienności ( $v$ ), zastosowano nieparametryczny test Manna-Whitney'a dla zmiennych niezależnych oraz test t-Studenta dla współczynnika korelacji liniowej. Za istotność statystyczną przyjęto  $p<0,05$ .

## Wyniki

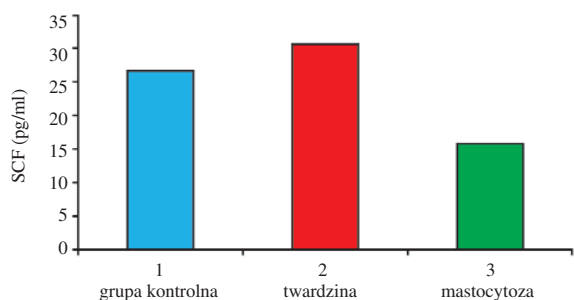
Wykazano, że stężenie SCF w osoczu chorych z MU było istotnie niższe w stosunku do chorych z ISSc i grupy kontrolnej i wynosiło odpowiednio (średnia  $\pm$  SD): 1 335,5 $\pm$ 1 38,6 pg/ml vs 1 709,4 $\pm$ 494,9 pg/ml ( $p<0,01$ ) oraz vs 1 592,5 $\pm$ 270,2 pg/ml ( $p<0,001$ ). Nie zaobserwo-

Tab. 1. Charakterystyka kliniczna pacjentów z twardziną układową typu *limited* (ISSc), mastocytozą układową (MU) oraz grupy kontrolnej; SD – odchylenie standardowe

	Płeć		Wiek (lata)	Total Skin Score (TSS)	Czas trwania choroby (lata)
	kobiety	mężczyźni	zakres (średnia $\pm$ SD)	zakres (średnia $\pm$ SD)	zakres (średnia $\pm$ SD)
grupa kontrolna	17	23	22–69 (46,1 $\pm$ 13,5)	–	–
ISSc	19	1	38–62 (50,9 $\pm$ 6,6)	12,0–22,0 (16,2 $\pm$ 3,1)	1–39 (15,3 $\pm$ 10,0)
MU	8	12	19–58 (43,9 $\pm$ 10,1)	–	1–39 (15,3 $\pm$ 10,0)



**Ryc. 1.** Stężenie czynnika wzrostowego komórek pnia (SCF) w osoczu chorych z twardziną układową i mastocytozą w porównaniu z grupą kontrolną



**Ryc. 2.** Stężenie czynnika wzrostowego komórek pnia (SCF) w hodowlach fibroblastów od chorych z twardziną układową, mastocytozą w porównaniu z grupą kontrolną

wano istotnych różnic pomiędzy stężeniem SCF w osoczu u chorych z twardziną i w grupie kontrolnej ( $p>0,05$ ) (ryc. 1.).

Ponadto stwierdzono, że stężenie SCF w hodowlach fibroblastów uzyskanych od chorych z mastocytozą było istotnie niższe niż u chorych z twardziną i wynosiło odpowiednio (średnia  $\pm$  SD)  $15,8 \pm 9,6$  pg/ml vs  $30,6 \pm 16,6$  pg/ml ( $p<0,05$ ). Nie wykazano statystycznie istotnej zależności pomiędzy stężeniem SCF w hodowlach fibroblastów od chorych z ISSc i MU a grupą kontrolną ( $p>0,05$ ) (ryc. 2.).

Występowała statystycznie istotna ujemna korelacja pomiędzy stężeniem SCF w osoczach chorych na twardzinę a czasem trwania choroby ( $r=-0,53$ ;  $r^2=0,28$ ) oraz nasileniem procesu chorobowego ocenianego za pomocą skali TSS ( $r=-0,81$ ;  $r^2=0,66$ ;  $p<0,05$ ). Obserwowano statystycznie istotną dodatnią zależność pomiędzy wiekiem pacjentów a stężeniem SCF w hodowlach fibroblastów od chorych z ISSc ( $r=0,65$ ;  $r^2=0,425$ ;  $p<0,05$ ), występowały także dość silne tendencje ujemnej korelacji pomiędzy tą cechą a czasem trwania choroby, aczkolwiek nie osiągnęły one istotności statystycznej ( $r=-0,49$ ;  $r^2=0,245$ ;  $p>0,05$ ). Wykazano istotną staty-

stycznie dodatnią korelację pomiędzy stężeniem SCF w hodowlach fibroblastów od chorych na MU a czasem trwania choroby ( $r=0,83$ ;  $r^2=0,682$ ;  $p<0,01$ ).

## Omówienie

Wybór pacjentów z twardziną i mastocytozą układową do podjętych przez nas badań podyktowany był faktem, że pomiędzy fibroblastami i komórkami tłuszczowymi, pełniącymi kluczowe role w patogenezie tych jednostek chorobowych, zachodzą silne interakcje, a także są one zaangażowane w patomechanizm nadmiernej włóknienia.

Stężenie SCF w osoczu jest odzwierciedleniem pewnych zaburzeń ogólnoustrojowych. Dotychczas nie wiadomo, które z komórek pełnią wiodącą rolę w produkcji tej cytokiny i czy zmienia się ona w warunkach patologicznych. Być może na poziom SCF mają także wpływ pewne cechy osobnicze, np. wiek pacjentów czy czas trwania choroby. Zjawisko to mogłoby tłumaczyć odmienne wyniki uzyskiwane przez różnych autorów. Za tą hipotezą przemawiają własne wyniki, wskazujące na występowanie ujemnej korelacji pomiędzy czasem trwania choroby oraz jej nasileniem a stężeniem SCF w osoczu chorych na twardzinę, a także zaobserwowana tendencja, dotycząca występowania niższych stężeń SCF w hodowlach fibroblastów twardzinowych wraz z długością trwania choroby. Być może obserwacja ta jest wynikiem wyczerpywania się pewnych mechanizmów obronnych organizmu, które prowadzą do obniżenia stężenia tej cytokiny w osoczu.

W badaniach własnych wykazano, że produkcja SCF przez fibroblasty twardzinowe, a także stężenie tej cytokiny w osoczu nie różni się od grupy kontrolnej, co jest zgodne z danymi z piśmiennictwa [46]. Yamamoto i wsp. [47] wykazali natomiast zwiększoną produkcję SCF przez hodowle fibroblastów twardzinowych z pierwszych pasażów w porównaniu ze zdrowymi fibroblastami ( $344,6 \pm 182,4$  pg/ml vs  $72,4 \pm 20,2$  pg/ml). Uzyskane przez nas wyniki prawdopodobnie spowodowane były doborem grupy pacjentów, w której przeważały zmiany zwłóknieniowe. Obserwacje te są zgodne z inną pracą Yamamoto i wsp. [48] w której wykazano istotnie zwiększoną liczbę komórek tłuszczowych w skórze właściwej we wczesnych, obrzękowych stadiach twardziny, natomiast nie stwierdzono takich różnic w późnej, zwłóknieniowej fazie twardziny. Kihura i wsp. [49] także wykazali wzrost stężenia SCF w surowicy chorych na twardzinę w obrzękowej fazie choroby.

We wcześniejszych badaniach własnych wykazano ekspresję SCF w fibroblastach twardzinowych, jednakże za pomocą komputerowej analizy obrazu nie wykazano różnicy w ekspresji tej cytokiny pomiędzy fibroblastami twardzinowymi a otrzymanymi ze zdrowej skóry [50, 51].



Nie wykryto także różnic w stężeniu tej cytokiny w pilotażowych badaniach własnych w twardzinie [52].

Uzyskane wyniki wskazują, że najprawdopodobniej droga komunikacji za pomocą SCF pomiędzy komórkami tucznymi a fibroblastami nie jest kluczowa w patomechanizmie rozwoju zmian twardzinowych.

Po odkryciu SCF i wykazaniu jego istotnej roli w rozwoju i różnicowaniu komórek tucznych powstało wiele hipotez na temat kluczowej roli tej cytokiny w mastocytozie [53]. Jednakże Longley i wsp. [37], badając 3 pacjentów z mastocytozą, nie wykazali żadnej zmiany w ekspresji mRNA SCF w skórze. Ponadto Hamman i wsp. [41] nie tylko nie stwierdzili zwiększonego poziomu SCF w przestrzeniach międzykomórkowych naskórka pokrywającego zmiany typu *mastocytoma*, ale obserwowali jego mniejszą ekspresję w obrębie zmian o typie pokrzywki barwnikowej oraz brak różnicy w ekspresji *c-kit*.

Brockow i wsp. [39] nie wykazali podwyższonego stężenia SCF w osoczu chorych na mastocytozę ani w płynie sztucznie wytworzonych pęcherzy w porównaniu z grupą kontrolną. Autorzy podkreślali jednak, że w stosowanej przez nich metodzie wykrywano tylko wolną formę SCF oraz SCF w kompleksie z rozpuszczalnym KIT. Uzyskane wyniki mogły więc nie uwzględniać, że nadmierna produkcja dotyczy formy SCF związanej z błoną komórkową, jednak badania immunohistochemiczne nie potwierdziły słuszności tej hipotezy.

We wcześniejszych badaniach pilotażowych, a także w obecnej pracy autorzy wykazali obniżone poziomy SCF w osoczu u chorych na mastocytozę układową w porównaniu z grupą kontrolną [54]. Wykazana ujemna korelacja między czasem trwania choroby a stężeniem SCF w hodowlach fibroblastów pobranych od chorych na mastocytozę może wynikać z faktu, że w wyniku progresji choroby wraz z wiekiem pacjentów obserwuje się zwiększoną liczbę komórek tucznych w zajętych narządach, co z kolei może prowadzić do nadmiernej stymulacji fibroblastów i wydzielania większych ilości SCF.

Podsumowując, w oparciu o dane z piśmiennictwa i własne obserwacje należy stwierdzić, że u chorych z mastocytozą występują pewne zaburzenia dotyczące syntezy SCF, aczkolwiek nie wydają się one odgrywać wiodącej roli w tej chorobie, natomiast rola tej cytokiny w twardzinie układowej wydaje się być znikoma. Niewątpliwie SCF jest zaangażowany w procesy patologiczne przebiegające w tkance łącznej w obu badanych chorobach, jednakże najprawdopodobniej w sposób wtórny, a na podstawie uzyskanych wyników nie można wysnuć dalej idących wniosków.

Praca finansowana z grantu KBN nr 4PO5A 079 18, a także prac badawczych Uniwersytetu Medycznego w Łodzi nr 508-01-081 oraz 503-119-1.

## Piśmiennictwo

1. Robak T: Czynniki wzrostowe komórek pnia (SCF). *Stem cell factor*. *Acta Haematologica Polonica* 1994; 25: 205-13.
2. Robak T: Czynniki wzrostowe komórek pnia (SCF). *Biologia i farmakologia cytokin*. PWN, Warszawa, 1995; 235-54.
3. Grabbe J, Welker P, Dippel, et al.: Stem cell factor, a novel cutaneous growth factor for mast cells and melanocytes. *Arch Dermatol Res* 1994; 287: 78-84.
4. Welker P, Grabbe J, Gibbs B, et al.: Human mast cells produce and differentially express both soluble and membrane-bound stem cell factor. *Scand J Immunol* 1999; 49: 495-500.
5. Hartman ML, Piliponsky AM, Temkin V, et al.: Human peripheral blood eosinophils express stem cell factor. *Blood* 2001; 97: 1086-91.
6. Garbuzenko E, Nagler A, Pickholtz D, et al.: Human mast cells stimulate fibroblast proliferation, collagen synthesis and lattice contraction: a direct role for mast cells in skin fibrosis. *Clin Exp All* 2002; 32: 237-46.
7. Brzezińska-Błaszczak E, Zalewska A: Mastocyty i fibroblasty – obojętni sąsiedzi czy przyjaźni partnerzy? *Post Biol Kom* 1997; 24: 127-43.
8. Levi-Schaffer F, Rubinchik E: Activated mast cells are fibrogenic for 3T3 fibroblasts. *J Invest Dermatol* 1995; 104: 999-1003.
9. Gruber BL, Kew RR, Jelaska A, et al.: Human mast cells activate fibroblasts. Tryptase is a fibrogenic factor stimulating collagen messenger ribonucleic acid synthesis and fibroblast chemotaxis. *J Immunol* 1997; 158: 2310-7.
10. Rubinchik E, Levi-Schaffer F: Mast cells and fibroblasts: two interacting cells. *Int J Clin Lab Res* 1994; 24: 139-42.
11. Rubinchik E, Levi-Schaffer F: Mast cells/fibroblast interactions. *Clin Exp All* 1994; 24: 1016-21.
12. Trautman A, Feuerstein B, Ernst N, et al.: Heterotypic cell-cell adhesion of human mast cells to fibroblasts. *Arch Dermatol Res* 1997; 289: 194-203.
13. Buckley CD, Pilling D, Lord JM, et al.: Fibroblasts regulate the switch from acute resolving to chronic persistent inflammation. *Trends Immunol* 2001; 22: 199-204.
14. Hogaboam C, Kunkel SL, Strieter RN, et al.: Novel role of transmembrane SCF for mast cell activation and eotaxin production in mast cell-fibroblast interactions. *J Immunol* 1998; 160: 6166-71.
15. Grabbe J, Welker P, Grutzkau A, et al.: Induction of human leukaemic mast cell differentiation by fibroblast supernatants, but not by stem cell factor. *Scand J Immunol* 1998; 47: 324-31.
16. Williams DE, Eisenman J, Baird A, et al.: Identification of a ligand for the *c-kit* protooncogene. *Cell* 1990; 63: 167-74.
17. Nocka K, Buck J, Levi E, et al.: Candidate ligand for the *c-kit* transmembrane kinase receptor: KL, a fibroblast derived growth factor stimulates mast cell and erythroid progenitors. *EMBO J* 1990; 9: 3287-94.
18. Morstyn G, Brown S, Gordon M, et al.: Stem cell factor is a potent synergistic factor in hematopoiesis. *Oncology* 1994; 51: 205-14.
19. Galli SJ, Tsai M, Wershil BK: The *c-kit* receptor, stem cell factor and mast cells. *Am J Pathol* 1993; 142: 965-74.
20. Bernstein JD, Andrews RG, Zsebo KM: Recombinant human stem cell factor enhances the formation of colonies by CD34+ and CD34+lin- cells and the generation of colony-forming cell progeny from CD34+lin- cells cultured with interleukin 3, granulocyte colony stimulating factor or granulocyte-macrophage colony stimulating factor. *Blood* 1991; 77: 2116-321.
21. Claman HN: On scleroderma. Mast cells, endothelial cells, and fibroblasts. *JAMA* 1989; 262: 1206-9.

22. Botstein GR, Sherer GK, Leroy EC: Fibroblast selection in scleroderma. An alternative model of fibrosis. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 189-95.
23. Beraney JT, Clevy JP: Mast cells in fibrosis. *Immunology Today* 1985; 11: 317.
24. Seibold JR, Giorno RC, Claman HN: Dermal mast cell degranulation in systemic sclerosis. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 1702-9.
25. Claman HN: Mast cell changes in a case of rapidly progressive scleroderma-ultrastructural analysis. *J Invest Dermatol* 1989; 92: 290-5.
26. Bischoff SC, Sellge G: Mast cell hyperplasia: role of cytokines. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 127: 118-22.
27. Nishioka K, Kobayashi Y, Katayama I, et al.: Mast cell numbers in diffuse scleroderma. *Arch Dermatol* 1987; 123: 205-8.
28. Takeda K, Hatamochi A, Ueki H: Increased number of mast cells accompany enhanced collagen synthesis in linear localized scleroderma. *Arch Dermatol Res* 1989; 281: 288-90.
29. Tuveri MA, Passiu G, Mathieu A, et al.: Nerve growth factor and mast cell distribution in the skin of patients with systemic sclerosis. *Clin Exp Rheum* 1993; 11: 319-22.
30. Akimoto S, Ishikawa O, Igarashi Y, et al.: Dermal mast cells in scleroderma: their skin density, tryptase/chymase phenotypes and degranulation. *Br J Dermatol* 1998; 138: 399-406.
31. Falanga V, Soter NA, Altman RD, et al.: Elevated plasma histamine levels in systemic sclerosis (scleroderma). *Arch Dermatol* 1990; 126: 336-8.
32. Hiragun T, Morita E, Tanaka T, et al.: A fibrogenic cytokine, platelet-derived growth factor (PDGF), enhances mast cell growth indirectly via a SCF- and fibroblast-dependent pathway. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 213-7.
33. Huttunen M, Naukkarinen A, Horsmanheimo M, et al.: Transient production of stem cell factor in dermal cells but increasing expression of Kit receptor in mast cells during normal wound healing. *Arch Dermatol Res* 2002; 294: 324-30.
34. Yamamoto T, Katayama I, Nishioka K: Impaired expression of stem cell factor in dermatofibroma fibroblasts. *Acta Derm Venereol (Stockh)* 1996; 76: 257-9.
35. Hartmann K, Hermes B, Rappersberger K, et al.: Evidence for altered mast cell proliferation and apoptosis in cutaneous mastocytosis. *Br J Dermatol* 2003; 149: 554-9.
36. Longley BJ, Reguera MJ, Ma Y: Classes of c-KIT activating mutations: proposed mechanisms of action and implications for disease classification and therapy. *Leuk Res* 2001; 25: 571-6.
37. Longley JB, Morganroth GS, Tyrrell L, et al.: Altered metabolism of mast-cell growth factor (c-kit ligand) in cutaneous mastocytosis. *N Engl J Med* 1993; 328: 1302-7.
38. Feger F, Dumas AR, Leriche L, et al.: Kit and c-kit mutations in mastocytosis: a short overview with special reference to novel molecular and diagnostic concepts. *Int Arch Allergy Immunol* 2002; 127: 110-4.
39. Brockow K, Akin C, Huber M, et al.: Levels of mast-cell growth factors in plasma and in suction skin blister fluid in adults with mastocytosis: correlation with dermal mast-cell numbers and mast-cell tryptase. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 82-8.
40. Ulich TR, Yi ES, Yin S, et al.: Hematologic effects of stem cell factor alone and in combination with G-CSF and GM-CSF in vivo and in vitro in rodents. *Int Rev Exp Pathol* 1993; 34: 215-33.
41. Hamann K, Haas N, Grabbe J, et al.: Expression of stem cell factor in cutaneous mastocytosis. *Br J Dermatol* 1995; 133: 203-8.
42. Akin C, Jaffe ES, Raffeld M, et al.: An immunohistochemical study of the bone marrow lesions of systemic mastocytosis: expression of stem cell factor by lesional mast cells. *Am J Clin Pathol* 2002; 118: 242-7.
43. Kambe N, Miyachi Y: A possible mechanism of mast cell proliferation in mastocytosis. *J Dermatol* 2002; 29: 1-9.
44. Jordan JH, Scherthner GH, Fritsche-Polanz R, et al.: Stem cell factor-induced bone marrow mast cell hyperplasia mimicking systemic mastocytosis (SM): histopathologic and morphologic evaluation with special reference to recently established SM-criteria. *Leuk Lymphoma* 2002; 43: 575-82.
45. Kahaleh MB: Soluble immunologic products in scleroderma sera. *Clin Immunol Immunopathol* 1991; 58: 139-44.
46. Langley KE, Bennett LG, Wypych J, et al.: Soluble stem cell factor in human serum. *Blood* 1993; 81: 656-60.
47. Yamamoto T, Hartman K, Eckers B, et al.: Role of stem cell factor and monocyte chemoattractant protein-1 in the interaction between fibroblasts and mast cells in fibrosis. *J Dermatol Sci* 2001; 2: 106-11.
48. Yamamoto T, Katayama I, Nishioka K: Expression of stem cell factor in the lesional skin of systemic sclerosis. *Dermatology* 1998; 197: 109-14.
49. Kihira C, Mizutani H, Asahi K, et al.: Increased cutaneous immunoreactive stem cell factor expression and serum stem cell factor levels in systemic scleroderma. *J Dermatol Sci* 1998; 20: 72-8.
50. Zalewska A, Omulecki A, Walczak-Drzewiecka A, et al.: Expression of the stem cell factor (SCF) in scleroderma fibroblasts – a preliminary report. *Med Sci Monit* 1998; 4: 579-82.
51. Wyczółkowska J, Omulecki A, Walczak-Drzewiecka A, et al.: Scleroderma fibroblasts express c-kit ligand in vitro. *J Invest Dermatol* 1998; 110: 612.
52. Zalewska A, Kolago B, Dziankowska-Bartkowiak B, et al.: Stem cell factor levels in plasma and in fibroblast cultures in patients with systemic sclerosis. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 451.
53. Inoue T, Yoneda K, Kakurai M, et al.: Alteration of mast cell proliferation/apoptosis and expression of stem cell factor in the regression of mastocytoma – a report of a case and a serial immunohistochemical study. *J Cutan Pathol* 2002; 29: 305-12.
54. Zalewska A, Kolago B, Omulecki A, et al.: Stem cell factor levels in patients with mastocytosis. *JEADV* 1999; 12 (suppl. 2): S354.