

Göz Tutulumu Olan ve Olmayan Behçet Hastalarında Coxsackie Virus Grup B Antikor Titreleri

ANTIBODY TITERS OF COXSACKIE VIRUSES OF GROUP B IN BEHÇET'S DISEASE WITH OR WITHOUT OCULAR INVOLVEMENT

Alper TEKELİ*, Oya TEKELİ**, Murat ÖZSAN***, Taner KARAOĞLU****, Özden ÖZDEMİR*****

* Uz.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği,

** Uz.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Kliniği,

*** Doç.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği,

**** Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi,

*****Prof.Dr., Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Kliniği, ANKARA

Özet

Amaç: Behçet hastalığı (BH) birden çok organı etkileyebilen bir hastalıktır. Çeşitli araştırmacılar hastalığın nedenlerini, özellikle de viral etkenleri ortaya koymak için çalışmışlardır. Bu çalışmada da Behçet hastalığında coxsackie virus grup B (CVB) antikor titreleri araştırılmıştır.

Metod: Çalışma grubu aktif göz tutulumu olan 20 (31.7%) (grup 1), geçirilmiş üveiti olan 13 (20.6%) (grup 2) ve göz tutulumu olmayan 30 (47.6%) (grup 3) hasta ve 30 sağlıklı kontrolden oluşturuldu. Hasta ve kontrol grubunun serumları mikropalak nötralizasyon testi kullanılarak analiz edildi.

Bulgular: Grup 1, 2 ve 3 arasında ve her 3 grup ile kontrol grubu arasında CVB1, B2, B3, B4, B5, B6 antikor titrelerinin dağılımı açısından fark bulunamamıştır (Kruskal-wallis ANOVA).

Sonuç: Göz tutulumu olan veya olmayan Behçet hastalığının patogenezinden, CVB grubunun sorumlu olmayabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Behçet hastalığı,
Coxsackie virus grup B, Üveit

Summary

Purpose: Behçet's disease (BD) is a multisystem disorder. Various investigators have attempted to identify an exogenous cause to this disease, particularly a viral one. In the present study we investigated antibody titers of coxsackie viruses group B (CVB) in BD.

Method: The study groups included 20 (31.7%) patients who had active ocular involvement (group 1), 13 (20.6%) patients who had clinical evidence of previous ocular disease (group2), 30 (47.6%) patients without ocular involvement (group 3), and 30 healthy control subjects. Sera of the patients and control subjects were analysed by using microplate neutralisation test.

Results: There were no statistically significant differences between group 1, 2 and 3 for distribution of CVB1, B2, B3, B4, B5, B6 antibodies titers and no differences between group 1, 2, 3 and control group (Kruskal-wallis ANOVA).

Conclusion: We conclude that CVB may not be responsible for pathogenesis of BD with or without ocular involvement.

Key Words: Behçet's disease,
Coxsackie virus group B, Uveitis

T Klin J Ophthalmol 2001, 10:83-87

T Klin Ophthalmol 2001, 10:83-87

BH otoimmün bir bozukluk olup, klinik olarak nüks eden oral ve genital ülserler, deri lezyonları, üveit, artrit, vaskülit, inflamatuvar barsak hastalığı

Geliş Tarihi: 02.08.2000

Yazışma Adresi: Dr.Alper TEKELİ
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD
Sıhhiye, ANKARA

ve nörolojik bulgularla karakterize olabilir (1,2). Hastalığın kronik bir seyri vardır ve tekrarlayan alevlenmelerle, tutulan organlarda ilerleyici bir bozukluğa neden olur. Etiyolojisi bilinmemekle beraber, bazı viral ajanlarla ilgili kanıtlar vardır (3,4). Denman ve arkadaşları bu hastalıkta virusların rolü ile ilgili bir teori öne sürmüşler ve hastaların mononükleer hücrelerinde interferonun neden olduğu bir enzim olan, 2'-5'A-sentetazın yüksek konsantrasyonda olduğuna dikkati çekmişlerdir

T Klin J Ophthalmol 2001, 10

83

(5). Ancak BH' da CVB'nin rolü araştırılmamıştır. CVB enterovirus genusunun bir üyesi olup, bazı kronik hastalıklarda etiyolojik faktör olarak suçlanmaktadır. Coxackie virüs türlerinin herbir grubu, yenidoğmuş farelerde patojenite gösterir. Entero-virus isolatları poliklonal hayvan serumları kullanılarak isimlendirilmiş ve 6 CVB serotipi tanımlanmıştır (6). Biz bu çalışmada mikropalak nötra-lizasyon testi kullanarak CVB ve göz tutulumu olan ve olmayan BH arasındaki ilişkiyi araştırdık.

Materyel ve Metod

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı Uvea servisinde, Mayıs 1999-Kasım 1999 yılları arasında takip edilmekte olan 63 hasta çalışmaya alındı. Bütün hastalar uluslararası BH tanı kriterlerine uygundu (7). Kontrol grubu 30 sağlıklı kişiden oluşturuldu. Hasta ve kontrol grubunu oluşturan kişiler Türktü. Bütün hastalar ve kontrol gruplarının görme keskinliği ölçüldü, ön ve arka segment biomikroskopisi, göziçi basınç ölçümleri ve dilate fundus muayeneleri yapıldı.

Serum Örnekleri: BH'dan ve kan vericilerinden venöz yoldan alınan 10 ml heparinize kan örneği santrifüj edildi ve kullanılmaya kadar -80°C'de saklandı.

Hücre kültürü: Vero hücre dizisi %10 ısı ile inaktive edilmiş, fetal calf serumu (FCS).

(Biochrom Kg. Berlin Germany) ile zenginleştirilmiş Dulbecco's Minimal Essential Medium (DMEM) (Biochrom Kg. Berlin Germany) ortamında kültüre edildi.

Virus: Coxsackie virus B 1, 2, 3, 4, 5, 6 standart suşları mikropalak nötralizasyon testinde kullanıldı.

Nötralizasyon testi: Nötralizasyon testi önceden tarif edildiği şekilde uygulandı (8). Örnek ve kontrol serumlarından saf ve seri dilüsyonları şeklinde (1/4, 1/16 and 1/64), 96 kuyucuklu plakların kuyucuklarına (Greiner, Nuertingen, Germany) 50'şer ml konuldu. Her virüs süspansiyonundan 50 ml kuyucuklara eklendi ve plaklar 37°C'de, 60 dakika %5 CO₂ içeren ortamda inkübe edildi. İnkübasyon sonrası, 50 ml VERO hücre süspansiyonu 3 x 10⁶ cells/ml olacak şekilde konuldu ve 37°C'de %5 CO₂ içeren ortamda inkübe edildi ve kontrol kuyucuklarında inverted mikroskop (Olympus, Tokyo, Japan) ile morfolojik değişiklikler görülmeye başlandığında kontrol ve hasta serumlarının antikor titreleri hesaplandı.

Bulgular

Hastalar 3 gruba ayrıldı. Birinci grup aktif göz tutulumu olan 20 (31.7%), 2. grup geçirilmiş üveit atağı olan 13 (20.6%), 3. grup ise göz tutulumu olmayan 30 (47.6%) Behçet hastasından oluşmaktaydı. Grup 1'de 13 erkek, 7 kadın vardı ve yaş ortalaması 33.4' tü. Grup 2'de 8 erkek, 5 kadın mevcuttu ve yaş ortalaması 34.5'dü. Grup 3'de 16 erkek ve 14 kadın vardı ve yaş ortalaması 35'di. Hastalık süresinin sınırları 1. grupta 1-16, 2. grupta 1-18, 3. grupta 2-15 yıl arasında değişmekteydi. Göz tutulumu olan 11 hastada hem ön hem de arka üveit, 9 hastada ise yalnızca ön üveit vardı. Topikal tedavi olarak kortikosteroid ve sikloplejik ajanlar verildi. Sistemik tedavi olarak 1. gruptaki hastalardan bazıları kortikosteroid ve siklofosfamid kullanmaktaydı. Her üç gruptaki tüm hastalar kolsişin almaktaydı. Kontrol grubu 20 erkek, 10 kadın olmak üzere 30 sağlıklı kişiden oluşmaktaydı ve yaş ortalaması 35.5'dü.

Tablo 1, 2, 3, 4, 5, 6'da grup 1, 2, 3 ve kontrol grubunda coxsackie virus B1, B2, B3, B4, B5, B6 için saptanan antikor titrelerinin dağılımı veril-

Tablo 1. Göz tutulumu olan ve olmayan Behçet hastalarında ve kontrol grubunda coxsackie virus B1 antikor titrelerinin dağılımı

	Negatif		Saf		1/4		1/16		1/64	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Coxsackie B1										
Grup I	8	40	2	10	8	40	1	5	1	5
Grup II	11	84.6	-	-	1	7.7	1	7.7	-	-
Grup III	18	60	3	10	4	13.3	1	3.4	4	13.3
Kontrol	17	56.6	5	16.7	5	16.7	3	10	-	-

n: Vaka sayısı

Tablo 2. Göz tutulumu olan ve olmayan Behçet hastalarında ve kontrol grubunda coxsackie virus B2 antikor titrelerinin dağılımı

Coxsackie B2	Negatif		Saf		1/4		1/16		1/64	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Grup I	7	35	3	15	7	35	3	15	-	-
Grup II	8	61.5	1	7.7	3	23.1	1	7.7	-	-
Grup III	21	70	3	10	4	13.3	1	3.3	1	3.3
Kontrol	14	46.7	6	20	5	16.7	3	10	2	6.7

n: Vaka sayısı

Tablo 3. Göz tutulumu olan ve olmayan Behçet hastalarında ve kontrol grubunda coxsackie virus B3 antikor titrelerinin dağılımı

Coxsackie B3	Negatif		Saf		1/4		1/16		1/64	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Grup I	9	45	1	5	7	35	3	15	-	-
Grup II	11	84.6	-	-	2	15.4	-	-	-	-
Grup III	17	56.7	1	3.3	7	23.3	1	3.3	4	13.3
Kontrol	20	66.7	2	6.7	5	16.7	3	10	-	-

n: Vaka sayısı

Tablo 4. Göz tutulumu olan ve olmayan Behçet hastalarında ve kontrol grubunda coxsackie virus B4 antikor titrelerinin dağılımı

Coxsackie B4	Negatif		Saf		1/4		1/16		1/64	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Grup I	6	30	4	20	3	15	2	10	5	25
Grup II	7	53.8	-	-	1	7.7	3	23.1	2	15.4
Grup III	14	46.7	2	6.7	4	13.3	3	10	7	23.3
Kontrol	10	33.3	5	16.7	7	23.3	2	6.7	6	20

n: Vaka sayısı

Tablo 5. Göz tutulumu olan ve olmayan Behçet hastalarında ve kontrol grubunda coxsackie virus B5 antikor titrelerinin dağılımı

Coxsackie B5	Negatif		Saf		1/4		1/16		1/64	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Grup I	13	65	3	15	3	15	1	5	-	-
Grup II	10	76.9	1	7.7	1	7.7	-	-	1	7.7
Grup III	14	46.7	3	10	9	30	3	10	1	3.3
Kontrol	13	43.3	6	20	7	23.3	2	6.7	2	6.7

n: Vaka sayısı

Tablo 6. Göz tutulumu olan ve olmayan Behçet hastalarında ve kontrol grubunda coxsackie virus B6 antikör titrelerinin dağılımı

Coxsackie B6	Negatif		Saf		1/4		1/16		1/64	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Grup I	13	65	1	5	3	15	1	5	2	10
Grup II	12	92.3	-	-	-	-	-	-	1	7.7
Grup III	20	66.7	2	6.7	5	16.7	1	3.3	2	6.7
Kontrol	24	80	3	10	3	10	-	-	-	-

n: Vaka sayısı

Tablo 7. Grup 1,2,3 ve kontrol grubunun p değerlerinin karşılaştırılması

	CVB1	CVB2	CVB3	CVB4	CVB5	CVB6
	P	P	P	P	P	P
Grup 1-kontrol	P=0.4	P=0.44	P=0.13	P=0.73	P=0.12	P=0.14
Grup 2-kontrol	P=0.4	P=0.42	P=0.22	P=0.6	P=0.07	P=0.38
Grup 3-kontrol	P=0.7	P=0.77	P=0.3	P=0.72	P=0.98	P=0.16

miştir. Grup 1, 2 ve 3 arasında antikör titrelerinin dağılımı açısından, istatistiksel olarak fark bulunmamıştır (sırasıyla $p=0.05$, $p=0.05$, $p=0.085$, $p=0.7$, $p=0.12$, $p=0.23$, Kruskal-wallis ANOVA). Yine her 3 grup ve kontrol grubu arasında da, titrelerin dağılımı açısından fark bulunmamıştır. Tablo 7'de kontrollerle, her 3 grubun karşılaştırılmasına ait p değerleri görülmektedir (Kruskal-wallis ANOVA).

Tartışma

BH sistemik bir vaskülitir. Patogeneizde, bağışıklık sisteminde herpes simpleks tip 1 ve bazı streptokok türleri ile tetiklenen bir bozukluk suçlanmaktadır. Hastalarda, mikobakteri ısı şok proteinlerinden türetilen belli sentetik peptidleri tanıyan lenfositler gösterilmiştir. İnsan dokularındaki ısı şok proteinlerine moleküler açıdan benzerlikleri nedeniyle birçok ajanın, bağışıklık yanıtını ve hastalığı başlatması olasıdır (9).

BH gözün hem ön segmentini, hem de arka segmentini etkileyebilir. Arka segment tutulumu retina vaskülit, retina kanaması, makula ödemi, fokal retina nekrozu, iskemik optik nöropati, vitritis şeklinde olabilir ve bunlar ciddi görme problemlerine yol açabilir. Nadiren de koroidal, dış retina ve retina pigment epitel tutulumuna ait belirtiler saptana-

bilir (10,11). CVB'ye bağlı arka segment bulguları nedeniyle, çalışmamızda göz tutulumu olan veya olmayan BH'da, etiyolojideki rolü açısından bu 6 tip virusun antikör titreleri araştırılmıştır.

CVB'ye bağlı görülen en sık enfeksiyon santral sinir sistemi tutulumudur. Bu çoğu kez aseptik menenjit şeklindedir (12). Bununla beraber ensefalit (13), felçler, kardit, yenidoğanlarda sepsis ve yaygın enfeksiyonlar (6) da bildirilmiştir. Bu akut hastalıkların yanı sıra diabetes mellitus (14), kronik yorgunluk sendromu (15), inflamatuvar kalp hastalığı, amiyotrofik lateral skleroz ve kronik miyopati (6) gibi kronik hastalıklara da yol açabildiği rapor edilmiştir.

Kadınlar ve arkadaşları erişkin korioretinitinin bir nedeni olarak CVB4'ü bildirmişlerdir. CVB4, korioretinitinin nadir bir sebebi olmakla beraber uygun klinik varsa, etiyolojik nedenler arasında düşünülmelidir. Bu sendromda, çoğu vakalar şüphe üzerine saptanabilir (16). Forster ve arkadaşları başağrısı, diare ve yüksek ateşi takiben tek taraflı retina vaskülit, papillit ve korioretinit olan bir hasta tanımlamışlardır. Bu hastada anormal elektrokardiografi bulguları ve antikör titresi kuvvetli bir şekilde, etkenin CVB3 enfeksiyonu olduğunu düşündürmüştür (17). Hırakata ve

arkadaşları da CVB4'ün neden olduğu bir koriyoretinit vakasını rapor etmişlerdir (18).

Çalışmamızda her 3 grup arasında ve bu grup-larla kontroller arasında, CVB1,2,3,4,5,6 antikor titrelerinin dağılımı açısından istatistiksel olarak fark saptanamamıştır. Bu sonuçlar göz tutulumu olan ve olmayan BH'da, etiyolojide CVB'nin rolü olmadığını düşündürmüştür.

KAYNAKLAR

1. Carletto A, Pacor ML, Biasi D, et al. Changes of neutrophil migration without modification of in vitro metabolism and adhesion in Behçet's disease. *J Rheumatol* 1997;24:1332-6.
2. Örem A, Vanizor B, Çimsit G, et al. Decreased nitric oxide production in patients with Behçet's disease. *Dermatology* 1999;98:33-6.
3. Şahin S, Lawrence R, Direskeneli H, et al. Monocyte activity in Behçet's disease. *Br J Rheumatol* 1996; 35:424-9.
4. Hamzaqui K, Ayed KH, Hamza M, et al. Natural killer cells in Behçet's disease. *Clin Exp Immunol* 1988 ; 71:126-31.
5. Denmann AM, Hylton W, Pelton BK, et al. The viral etiology of Behçet's disease. In:Lehner T, Barnes CG (eds). *Recent advances in Behçet's disease*. London, Royal Society of Medical Services, 1986;23-30.
6. Pallansch MA. Coxsackievirus B epidemiology and public health concerns. In: Chapman TNM, Mahy BWJ (eds). *The Coxsackie B Viruses*. Heidelberg, 1997;13-30.
7. Evaluation of diagnostic (classification) criteria in Behçet's disease-towards internationally agreed criteria. By the international study group for Behçet's disease. *Br J Rheumatol* 1992;31:299-308.
8. Frey HR und Liess B. Vermehrungskinetik und vermendbarkeit einer zytopathogenen VD-MD virusstammes für diagnostische untersuchungen mit der mikrotiter-methode. *Zbl. Vet. Med* 1971;18: 61-71.
9. Özdemir Ö. Behçet Hastalığı. *MN Oftalmoloji*. 1994(1): 256-64.
10. Nussenblatt RB, Palestine AG. Behçet's disease and other retinal vasculitidis. *Uveitis: fundamentals and clinical practice*. Year Book Medical Publishers, Chicago, 1989:212-47.
11. Friedman A, Augsburger JJ, Tessler HH, et al. Anterior uveitis. In: Nichols B, Bueren JV (eds). *Basic and Clinical Science and Course section 3, Intraocular İnflammation, Uveitis, and Ocular Tumors*. San Francisco 1989;92-107.
12. Berlin LE, Rorabaugh ML, Heldrich F, et al. Aseptic meningitis in infants < 2 years of age: diagnosis and etiology. *J Infect Dis* 1993;168: 888-92.
13. Kamei S, Hersch SM, Kurata T, et al. Coxsackie B antigen in the central nervous system of a patient with fatal acute encephalitis: immunochemical studies of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue. *Acta Neuropathol* 1990;80: 216-21.
14. Barrett-Conner E. Is insulin-dependent diabetes mellitus caused by coxsackievirus B infection. A review of epidemiologic evidence. *Rev Infect Dis* 1985;7: 207-15.
15. Nairn C, Galbraith DN, Clements GB. Comparison of coxsackie B neutralisation and enteroviral PCR in chronic fatigued patients. *J Med Virol* 1995;46: 310-3.
16. Kadrmas EF, Buzney SM. Coxsackievirus B4 as a cause of adult chorioretinitis. *Am J Ophthalmol* 1999;127: 347-49.
17. Forster W, Bialasiewicz AA, Busse H. Coxsackievirus B3-associated panuveitis. *Br J Ophthalmol* 1993; 77(3): 182-3.
18. Hirakata K, Oshima T, Azuma N. Chorioretinitis induced by coxsackievirus B4 infection. *Am J Ophthalmol* 1990; 109(2): 225-7.