

Doğuşsal ve Gelişimsel Katarakt Olgularında Herpes Simpleks Virüs ve Sitomegalovirüs DNA'larının Araştırılması

Investigation of Herpes Simplex and Cytomegalovirus DNA's in Congenital and Developmental Cataracts

Dr. Sinan EMRE,^a
Dr. Barış OTLU,^b
Dr. Selim DOĞANAY,^a
Dr. Rıza DURMAZ^b

^aGöz Hastalıkları AD,
^bMikrobiyoloji AD,
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Malatya

Geliş Tarihi/Received: 16.02.2008
Kabul Tarihi/Accepted: 23.05.2008

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Sinan EMRE
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Göz Hastalıkları AD, Malatya,
TÜRKİYE/TURKEY
semre@inonu.edu.tr

ÖZET Amaç: Doğuşsal katarakt, çocukluk çağında önlenabilir körlüğün en önemli sebebidir. Doğuşsal kataraktların etiyojisinde intrauterin enfeksiyonların rolü daha önce pek çok çalışma ile gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı doğuşsal katarakt sebebi ile opere edilen olguların lens kapsüllerinde herpes simpleks virüs (HSV) ve sitomegalovirüs (CMV) DNA'larının araştırılmasıdır. **Gereç ve Yöntemler:** Çalışmaya İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı polikliniğinde doğuşsal katarakt tanısı konularak operasyon yapılan olgular dahil edildi. Sistemik muayenelerinde eşlik eden metabolik hastalığı olan, ebeveynlerinin birinde doğuşsal katarakt anamnezi bulunan olgular ve travma hikayesi olan hastalar çalışma dışında tutuldular. Çift taraflı kataraktı olan 10 hasta ile tek taraflı kataraktı bulunan bir hastadan olmak üzere toplam 21 gözden katarakt operasyonu sırasında alınan lens ön kapsüllerinde HSV ve CMV DNA'ları gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile arandı. **Bulgular:** Çalışmada sekiz erkek, üç kadın hastanın 21 gözünden alınan lens ön kapsül materyallerinde virüslerin DNA'ları arandı. Hastaların ortalama yaşı 18 aydı. Olguların tamamında katarakt operasyonu fakoemulsifikasyon yöntemi ile komplikasyonsuz tamamlandı. Hastaların lens kapsül materyallerinin hiçbirinde HSV ve CMV'ye ait DNA tespit edilemedi. **Sonuç:** Doğuşsal katarakt vakalarında intrauterin enfeksiyonların önemi bilinmektedir. Ancak HSV ve CMV'nin konjenital katarakt etiyojisindeki rolü beklediğimizden daha az olabilir. Konjenital katarakt etiyojisinde intrauterin enfeksiyonların rolünün tamamen açıklığa kavuşturulabilmesi için başta rubella olmak üzere diğer enfeksiyon ajanlarının da araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Katarakt, sitomegalovirüs, herpes simpleks virüs, polimeraz zincir reaksiyonu

ABSTRACT Objective: Congenital cataract is the leading cause of preventable blindness at childhood period. The role of intrauterine infections in the congenital cataract etiology have been previously documented. The aim of this study is to explore DNA's of herpes simplex virus and cytomegalovirus from anterior lens capsules of patients who have been operated for congenital cataract. **Material and Methods:** Patients operated for congenital cataract at Inonu University School of Medicine, Department of Ophthalmology were included. Patients with any associated metabolic diseases, congenital cataract anamnesis in any parents and patients with trauma anamnesis were excluded. The anterior lens capsule which was obtained from 10 patients with bilateral congenital cataract and 1 patient with unilateral congenital cataract were studied by polymerase chain reaction for detection of herpes simplex virus and cytomegalovirus DNA's. **Results:** Twenty-one lens capsules from 8 male and 3 female children were included for investigation of viruses DNA. Mean age of the patients was 18 month. In all cases uncomplicated phacoemulsification surgery were performed for removal of cataracts. Herpes simplex virus and cytomegalovirus DNA's were detected in none of the anterior lens capsule samples. **Conclusion:** The importance of intrauterine infections for development of congenital cataract is well known subject. However the role of herpes simplex virus and cytomegalo virus could be lower than the expectations. It needs more studies, for documentation the role of intrauterine infection in the congenital cataract etiology, mainly rubella and other intrauterine infections should be also investigated.

Key Words: Cataract, cytomegalovirus, herpes simplex, polymerase chain reaction

Dünya çapında görme kaybının en önemli sebeplerinden biri olan katarakt, insan göz lensinin saydamlığını kaybetmesi ile meydana gelmektedir. Göz doktorlarının bebeklik ve çocukluk çağındaki hastalarında nadir olsa da karşılaştıkları kataraktlara doğuşsal ve gelişimsel katarakt denmektedir. Doğuşsal ve gelişimsel kataraktlar, erişkin kataraktlarına göre çok daha az görülmekle beraber, çocukluk çağı körlüklerinin önemli bir kısmından doğuşsal kataraktlar sorumludur. Dünya Sağlık Örgütü önlenabilir körlük vakalarının sayısını azaltmak amacıyla geliştirdiği, "VISION 2020" programında çocukluk çağı kataraktlarını da önemli bir başlık olarak programına almıştır.¹

Doğuşsal katarakt yalnız izlenebildiği gibi, beraberinde başka göz hastalıkları veya sistemik hastalıklar da bulunabilir. Doğuşsal katarakt, çocukluk çağında tedavi edilebilir görme keskinliğini azaltan hastalıklar arasında en sık olanıdır. Hastalığın erken tanısı ve uygun cerrahi yöntemlerle tedavi edilmesi, gecikildiği takdirde, hastanın görme keskinliğinin artmasını engelleyen duyuşsal deprivasyon ambliyopisinin önlenmesi açısından da önemlidir.²

Hastalığın etiyojisinde metabolik hastalıklar, genetik geçiş gösteren sendromlar, intrauterin enfeksiyonlar ve eşlik eden başka oküler hastalıklar olabilir.^{3,4} Özellikle çift taraflı olgularda genetik mutasyonların önemli olabileceği belirtilmiştir.²

Katarakt cerrahisi sırasında elde edilen materyallerden virüsün veya virüs DNA'sının tespiti daha önce çeşitli yayınlarda gösterilmiştir.⁵⁻⁷ Biz de bu çalışmamızda kliniğimizde doğuşsal ve gelişimsel katarakt tanıları olarak cerrahi uygulanan hastalarımızdan temin ettiğimiz ön kapsül materyallerinde başlıca kataraktojenik virüsler olan HSV ve CMV DNA'larını gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyon (PZR) metodu ile tespit etmeye çalıştık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmaya Mayıs 2006-Ocak 2008 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalında 16 yaşından küçük olup, katarakt operasyonu geçiren olgular dahil edildiler. Olguların ta-

mamı, poliklinik muayenelerinde katarakt tanısı alındıktan sonra, etiyojilerinin ve eşlik eden muhtemel patolojilerin tespiti açısından Pediatri Anabilim Dalı tarafından değerlendirildi. Yapılan araştırmalar sonucunda doğuşsal veya gelişimsel katarakt gelişimi açısından herhangi bir metabolik hastalığı ve risk faktörü tespit edilmeyen olgular çalışmaya alındılar. Ebeveynlerinin herhangi birinde konjenital katarakt hikayesi bulunan ve travmaya bağlı sekonder katarakt gelişen olgular çalışma dışında tutuldular. Çalışmaya doğuşsal ve gelişimsel katarakt sebebi ile opere edilen 11 (8 erkek, 3 kız) hastanın 21 gözü dahil edildi. Çalışma Helsinki Deklarasyonu prensiplerine uyularak, hasta hakları gözetilerek yürütülmüştür.

Bütün operasyonlar genel anestezi altında uygulandı. Yüzde 10'luk povidon-iyodin ile cilt temizliğini takiben, kapak-kirpikler içine alacak şekilde steril örtü ile örtüldü. Daha sonra kornea ve konjunktivaya %5'lik povidon-iyodin 3 dakika süre ile tatbik edildi ve fortifiye dengeli tuz solüsyonu ile uzaklaştırıldı (BSS plus). Cerrahi sırasında 20 gauge stiletto ile hazırlanan yan girişlerden sonra, saydam korneada 3 mm'lik 3 planlı tünel hazırlandı. Endoteli korumak için hava enjeksiyonunu takiben ön kamaraya trepan mavisini verildi. Ön kamara kondroitin sülfat-sodyum hiyalürinat içeren viskoelastik madde ile doldurulduktan sonra kapsül penseti yardımı ile lens ön kapsülünde kapsülöksis tamamlandı. Cerrahinin diğer kısımları bütün vakalarda komplikasyonsuz olarak tamamlandı. İki yaşından büyük çocuklarda göz içi merceği yerleştirilmesi benimsenirken, daha küçük çocuklar afak bırakıldı. Olgularımızın tamamı altı yaşından küçük olduğu için rutin olarak arka kapsülotomi ve ön vitrektomi rutin uygulandı. Alınan ön kapsül materyalleri gerekli incelemeler yapıncaya kadar -80°C'de saklandı.

ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI

Tüm lens ön kapsül örneklerinden "Qiagen, Pure-
Art DNA Mini Kit" in (Qiagen GmbH, Hamburg, Germany) doku protokolü takip edilerek DNA ekstraksiyonları yapıldı. CMV ve HSV tespiti için gerçek zamanlı PZR yöntemleri kullanıldı.

Gerçek zamanlı PZR ile CMV ve HSV DNA'larının saptanması

Gerçek zamanlı PZR yöntemi için "Arthus CMV PCR" ve "Arthus HSV1/2 PCR" (Qiagen Hamburg GmbH, Almanya) kitleri kullanılarak Rotor-Gene 3000 (Corbett Research) cihazı ile viral yükler araştırıldı. Kitlerin içeriğinde PZR inhibisyonunu saptamak için iç kontroller ve DNA izolasyonunu denetlemek için dış kontroller mevcuttu. Standartların eşik değerleri göz önüne alınarak örneklerdeki viral yük kantitatif olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmaya sekiz erkek hastanın 15 gözü, üç kız hastanın altı gözü dahil edildi. Çocukların ortalama yaşı 18.4 ± 22.6 ay (2 ay-5 yaş aralığında) idi. Hastaların katarakt tipleri incelendiğinde 11 olguda matür katarakt, altı olguda membranöz katarakt, üç olguda arka subkapsüler katarakt ve bir olguda nükleer katarakt tespit edildi. Çocukların preoperatif muayenelerinde üç olguda nistagmus ve bir olguda da mikrokornea tespit edildi.

Çalışma kapsamında alınan örneklerin hiçbirinde aranan virüs DNA'ları, kullanılan PZR yöntemleri ile tespit edilemedi.

TARTIŞMA

Bütün dünyada görme keskinliği kaybı şiddetli veya tam olan kişi sayısının 180 milyondan fazla olduğu hesaplanmaktadır. En sık etkilenen doku lens olup, korneanın ikinci sıklıkla etkilendiği bilinmektedir.⁸

Çocukluk çağında önlenabilir hastalıklara bağlı körlük sıklığı gelişmiş ülkelerde 1000 kişide 0.3 iken, gelişmemiş ülkelerde 1.5 olarak bildirilmiştir.⁹ Geniş katılımlı çalışma grupları ile yapılan araştırmalarda ciddi görme kaybı veya körlük bulunan çocuk hastalar arasında katarakt sıklığı % 7-33 arasında bildirilmiştir.¹⁰⁻¹² Gogate ve ark. çalışmalarında doğuşsal katarakta bağlı körlük sıklığını %6 olarak bildirmişlerdir. Ancak, yazarlar ilerleyen teknoloji ve tıbbi hizmetler sebebi ile çocukluk çağı körlük etiyolojilerinde doğuşsal katarakt ve korneal skatrizasyona bağlı körlük sıklığı azalırken, mikroftalmi ve anoftalmi gibi doğuşsal anomalilerin

arttığını belirtmişlerdir.¹³

Canlı doğum sayıları dikkate alınarak yapılan diğer çalışmalarda doğuşsal katarakt sıklıkları 10.000 canlı doğumda 2.27 ve 2.49 olarak rapor edilmiştir.^{14,15} Ülkemizde bu konu ile ilgili bir kayıt bulunması mümkün olmamıştır.

Doğuşsal kataraktlarda genetik geçişten sorumlu olan pek çok gen gösterilmiştir. Ancak yapılan çalışmalar genetik geçişin iki taraflı olgularda vakaların yaklaşık %30'unda sorumlu olduğunu, tek taraflı tutulumlarda geçişin %2'ler seviyesinde kaldığını göstermiştir.¹⁴

Değişik yayınlar doğuşsal kataraktların erkeklerde daha sık olduğunu belirtmektedir.^{14,16,17} Ancak pediatrik katarakt vakalarında kız çocuklarının prognozlarının kötü olduğu bilinmektedir.¹⁸ Bizim çalışmamızda da olgularımız çoğunlukla erkek çocuklardan oluşmaktaydı.

Yaman ve ark. 8 yıllık sonuçlarını derledikleri olguların cerrahi anındaki ortalama yaşını 11.8 ay ve çift taraflı tutulum sıklığını %80 olarak bildirmişlerdir.¹⁹ Bizim çalışmamızda da bir olgu dışında olguların tamamında bilateral katarakt (%91) mevcuttu. Benzer şekilde Şener ve ark. 113 hastadan oluşan serilerinde olguların %80'ninin iki taraflı tutulum gösterdiğini ve erkek hastaların oranının daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.²⁰ Yazarlar olgularının yaklaşık %24'ünde intrauterin enfeksiyonu destekleyen serolojik pozitiflik olduğunu bildirmişlerdir. Bu yayında en yüksek pozitiflik CMV enfeksiyonu için tespit edilmiş olup, CMV ve HSV pozitifliği olguların toplam %14'ünde tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda hastaların serolojik parametrelerinin bulunmaması bir eksiklik olarak görülebilir. Ancak, PZR metodu ile lens materyallerinden direkt olarak virüsün gösterilmesi, konjenital katarakt gelişiminde bu virüslerin rolünü değerlendirilmek açısından daha önemli bir yöntemdir. Son yıllarda Raghu ve ark. serum HSV antikorları pozitif olan olgularının tamamının lens materyallerinde PZR ile virüs DNA'sını izole edebilmişlerdir.²¹

Kullandığımız gerçek zamanlı PZR yöntemlerinin etkenleri saptama sınırı, CMV için 0.24 kopya/mL ve HSV için 1.8 kopya/mL idi. Duyarlı-

lığı oldukça yüksek olan bu yöntemlerle, lens kapsülünden bu etkenlere ait virüs DNA'sı tespit edememiş olmamıza rağmen, çeşitli araştırmacılar özellikle rubella virüsünün lens materyalinde başarılı bir şekilde tespit edilebildiğini göstermişlerdir.^{6,22} Çalışma grubumuzda rubella virüs DNA'sının araştırılması başlangıçta hedeflediğimiz ancak süreç içerisinde teknik kısıtlılıklar sebebi ile gerçekleştiremediğimiz bir bölümdür.

Yapılan çalışmalar rubellaya bağlı kataraktın aşılama programı ile çok ciddi oranda azaldığını göstermiştir. Bununla beraber, HSV ve CMV, aşıları bugün için mümkün olmayan ve intrauterin enfeksiyonlarının, klasik bilgi olarak, doğuşsal katarakta sebep olduğu bilinen virüsleridir. Çalışmamıza dahil olan hasta sayımız kısıtlı olmakla birlikte sonuçlarımız her iki virüse bağlı katarakt gelişimi-

nin beklenenden düşük olabileceğini düşündürmektedir. Doğuşsal katarakt etiyojisinde öncelikle rubella enfeksiyonu olmak üzere diğer intrauterin enfeksiyonların ve başta genetik hastalıklar olmak üzere çeşitli metabolik hastalıkların rolü beklediğimizden fazla olabilir. Ancak bu konunun aydınlatılabilmesi için çok daha büyük çalışma grupları ile araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Ülkemizde de görme keskinliği düşük çocuk hastaların en önemli sebeplerinden olan doğuşsal ve gelişimsel kataraktların etiyojisinin ve sıklığının araştırılması için başta çocuk hastalıkları, genetik ve mikrobiyoloji disiplinlerinin katılımıyla planlanacak multidisipliner çalışmaların yapılmasının, hastalarımız ve ailelerinin yönlendirilmesi açısından faydalı olacağı inancındayız.

KAYNAKLAR

- Pizzarello L, Abiose A, Flytche T, Duerksen R, Thulasiraj R, Taylor H, et al. VISION 2020: The Right to Sight: A Global Initiative to Eliminate Avoidable Blindness. *Arch Ophthalmol* 2004;122(4):615-20.
- Reddy MA, Francis PJ, Berry V, Bhattacharya SS, Moore AT. Molecular genetic basis of inherited cataract and associated phenotypes. *Surv Ophthalmol* 2004;49(3):300-15.
- Lambert S, Hoyt C. Lens. In: David Taylor ed. *Pediatric Ophthalmology*. Massachusetts: Blackwell Scientific Publications. Massachusetts; 1990. p.299-318.
- Özdemir G, Karel F. Konjenital Kataraktlar epidemiyoloji, Sınıflama, Etiyopatogenez. *Türkiye Klinikleri J Ophthalmol* 1999;8(2):135-141.
- Kanra G, Firat T. Isolation of rubella virus from lens material in cases of congenital cataracts. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 1979;16(1):31-2.
- Malathi J, Therese KL, Madhavan HN. The association of rubella virus in congenital cataract - a hospital-based study in India. *J Clin Virol* 2001;23(1-2):25-9.
- Detorakis ET, Kozobolis VP, Pallikaris IG, Spandidos DA. Detection of herpes simplex virus in pseudoexfoliation syndrome and exfoliation glaucoma. *Acta Ophthalmol Scand* 2002 ;80(6):612-6.
- Whitcher JP, Srinivasan M, Upadhyay MP. Corneal blindness: a global perspective. *World Health Organ* 2001;79(3):214-21.
- Rahi JS, Gilbert CE, Foster A, Minassian D. Measuring the burden of childhood blindness. *Br J Ophthalmol* 1999;83(4):387-8.
- Haddad MA, Sei M, Sampaio MW, Kara-José N. Causes of visual impairment in children: a study of 3,210 cases. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 2007;44(4):232-40.
- Muhit MA, Shah SP, Gilbert CE, Foster A. Causes of severe visual impairment and blindness in Bangladesh: a study of 1935 children. *Br J Ophthalmol* 2007;91(8):1000-4.
- Bagchi K, Bhattacharya S. The profile of visual loss in children--a retrospective study in a referral hospital in India. *J Indian Med Assoc* 2006;104(7):366,368,370.
- Gogate P, Deshpande M, Sudrik S, Taras S, Kishore H, Gilbert C. Changing pattern of childhood blindness in Maharashtra, India. *Br J Ophthalmol* 2007;91(1):8-12.
- Rahi JS, Dezateux C. British congenital cataract interest group. Congenital and infantile cataract in the United Kingdom: underlying or associated factors. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(8):2108-14.
- Wirth MG, Russell-Eggitt IM, Craig JE, Elder JE, Mackey DA. Aetiology of congenital and paediatric cataract in an Australian population. *Br J Ophthalmol* 2002;86(7):782-6.
- Vanita Singh JR, Singh D. Genetic and segregation analysis of congenital cataract in the Indian population. *Clin Genet* 1999;56(5):389-93.
- Vogt G, Puhó E, Czeizel AE. Population-based case-control study of isolated congenital cataract. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol* 2005;73(5):997-1005.
- Eriksen JR, Bronsard A, Mosha M, Carmicheal D, Hall A, Courtright P. Predictors of poor follow-up in children that had cataract surgery. *Ophthalmic Epidemiol* 2006;13(4):237-43.
- Yaman A, Berk AT, Durak İ, Özbek Z. Gelişimsel Ve Konjenital Katarakt Hastalarında tedavi sonuçlarımız. *Türkiye Klinikleri J Ophthalmol* 2003;12(1):29-36.
- Şener EC, Tatlıpınar S, Önen M, Göktaş A, Türkçüoğlu P, Sanaş AS. Konjenital katarakt olgularının klinik özellikleri, tedavi ve rehabilitasyon sonuçları. *Türk Oftalmoloji Gazetesi* 2002;32(1):25-31.
- Raghu H, Subhan S, Jose RJ, Gangopadhyay N, Bhende J, Sharma S. Herpes simplex virus-1--associated congenital cataract. *Am J Ophthalmol* 2004;138(2):313-4.
- Shyamala G, Malathi J, Moses YS, Therese KL, Madhavan HN. Nested reverse transcription polymerase chain reaction for the detection of rubella virus in clinical specimens. *Indian J Med Res* 2007;125(1):73-8.