

Behçet Hastalığında Herpes Simplex Virusunun Rolü*

ROLE OF HERPES SIMPLEX VIRUS
IN BEHCET'S DISEASE

Meral BAZKURT
Seyyâl ROTA
M.Ali GÜRER

Geliş Tarihi: 4 Ocak 1989

Kabul Tarihi: 27 Haziran 1989

Gazi Üniv. Tıp Fak. Dermatoloji ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ANKARA

ÖZET

Behçet hastası olan 44 kişinin ve kontrol grubu olarak 22 sağlıklı kişinin senimlannda 3 ay ara ile ELISA yöntem; kullanılarak Herpes-Simplex Virus tip I ve Herpes-Simplex vims tip 2 IgG antikorları araştırılmıştır. Ayrıca indirekt immunofloresans yöntemi ile aynı kişilerde antinukleer antikor araştırılmıştır.

Her iki çalışmada Herpes-Simplex vims tip I IgG antikor ortalama seviyesi Behçet'ti hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$). Herpes-simplex virus tip II, IgG antikor ortalama seviyesi ilk çalışmada kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunurken, ikinci çalışmada ortalama seviye kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0.05$).

Antinukleer antikor hiçbir hastada saptanmamıştır.

Sonuçta Herpes-Simplex virüsünün Behçet hastalığında patolojik immun reaksiyonları başlatan etkenlerden biri olabileceği fikrine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Behçet hastalığı, Herpes Simplex virüsü.

T Kİ Tıp Bil Araş Dergisi, C.8, S.3,1990,197-202

GİRİŞ

Behçet hastalığının etyopatogenezi hakkında pekçok görüş ileri sürülmekte, bu konuda geniş araştırmalar yapılmakta ve sonuçlar tartışılmaktadır.

*XII. Ulusal Dermatoloji Kongresi'nde tebliğ edilmiştir, İstanbul: 27-30 Eylül 1988.

Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri ARAŞTIRMA Dergisi C.8, S.3,1990
Turkish Journal of RESEARCH in Medical Sciences V.8, N.3,1990

SUMMARY

Herpes-Simplex virus type-I (HSV-I) and Herpes-Simplex virus type-II (HSV-II) IgG antibodies were investigated twice in 44 patients with Behcet's disease and 22 healthy control with 3 months interval by ELISA technique, Antinuclear antibodies (ANA) were investigated by indirect immunofluorescence technique in the same groups.

The mean value of HSV-I IgG antibodies was found statistically significant compared to control group. The mean value of HSV-II IgG antibodies was found statistically significant compared to control group in the second study. ANA hasn't been detected in any of the patients.

As a result Herpes Simplex virus can be thought as one of the triggering agents that starts the pathological immunologic reactions in Behcet's disease.

KeyWords: Behcet's disease, Herpes Simplex virus.

T J Research Med Sei V.8, N.3,1990,197-202

1953 yılında ilk kez Necdet Sezer, Behçet hastalığında asıl olayın viral bir enfeksiyon olduğunu ileri sürmüştür. Bugüne kadar lezyonlardan virüs izolasyonu ile ilgili pek çok araştırma yapılmış, ancak olumlu bir sonuç elde edilememiştir (11,12).

Son zamanlarda Behçet hastalarında belli doku grubu antijenlerinin bulunduğu ve bu zeminde viral enfeksiyonların başlattığı bir otoimmunité olayının vaskülité meydana getirebileceği görüþü ağırlık kazanmıştır (1,4,7,12).

Bu görüþten hareket ederek Behçet hastalarının serumlarında Herpes-Simplex virus tip I (HSV-I) Herpes Simplex virus tip II (HSV-II)'ye karşı oluşan IgG antikorları ve antinükleerantikör (ANA) araştırıldı.

MATERYAL VE METOD

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Miniğinde takip edilmekte olan 16-59 yaşlan arasında 30'u erkek, 14'ü kadın, toplam 44 Behçet hastası seçildi. Hastaların aktif dönemde ve ilaç kullanmadan evvelki serumları ve 3 ay sonra colchicine tedavisine devam ederken alınan serumları 20°C'de saklandı. Kontrol grubu olarak, otoimmün bir hastalık hikayesi vermeyen ve son 2 ayda HSV enfeksiyonu geçirmediğini ifade eden, yaşları 18-54 arasında 12 erkek, 10 kadın, toplam 22 sağlıklı hastane personeli seçildi. Kontrol grubu olarak seçilen kişilerin de serumları 3 ay ara ile 2 kez alınarak -20°C'de saklandı.

Hasta ve kontrol grubu serumlarında HSV-I, HSV-II'ye karşı olan IgG antikorları, Clark Laboratories Inc. Herpes Simplex I IgG ve Herpes Simplex II IgG EIA kitleri ile kullanma talimatlarına göre Labsystem Uniskan II ELISA okuma cihazı kullanılarak araştırıldı.

Hasta ve kontrol grubu serumlarında antinükleer antikörleri (ANA) saptamak için indirekt immunofloresans yönteminden yararlanıldı. Sıçan karaciğer parçası sıvı azotta donduruldu. Doku stoku -70°C'de saklandı. Dokular kriyostat'ta 5 mikron kalınlığında kesilerek lam üzerine yerleştirildi. Hasta ve kontrol grubunun serumları 1/10 ve 1/40 oranlarında fosfatlı tampon (PBS) ile sulandırıldı. Bu serumlardan kesitlerin üzeri tamamen örtülecek şekilde damlatıldı. Lamlar nemli kutu içinde 25 dakika bekletildi. Bu süre sonunda 10 dakika PBS ile yıkanarak Behring firmasından temin edilen floresein izotiyosiyanat (FITC) ile işaretlenmiş antiinsan polivalan gamaglobulin serumları kesitler üzerine damlatıldı,

ve 25 dakika bekletildi. PBS ile 30 dakika yıkanarak üzerine gliserol PBS karışımı konulup, lamelle kapatılıp, prepatlar mikroskopta incelendi (17).

Sonuçlar t testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi (6).

BULGULAR

İlk alınan serumlarda HSV-I antikoru 44 olgunun 42'sinde müsbet, HSV-II antikoru ise 31 olguda müsbettir. Olgularımızın ikinci serumlarında HSV-I antikoru 41 olguda müsbet, HSV-II antikörün olguda müsbettir (Tablo 1).

Kontrol grubunun ilk serumlarında HSV-I antikoru 10 olguda müsbet, HSV-II antikoru ise 18 olguda müsbettir. İkinci serumlarda ise HSV-I antikoru 8 olguda müsbet, HSV-II antikoru ise 3 olguda müsbet olarak bulunmuştur (Tablo 2).

Olgularımızdan ilk alınan serumlardaki ortalama HSV-I antikör düzeyi 0.8460 ± 0.137 'dir. Bu değer kontrol grubunda 0.3103 ± 0.030 olup, HSV-I antikör düzeyi Behçet'li olgularda istatistiksel olarak önemli ölçüde yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$) (Tablo 3).

Olgularımızın ilk serumlarında ortalama HSV-II antikör düzeyi 0.2951 ± 0.049 'dur. Kontrol grubunda ise 0.106 ± 0.006 'dır. HSV-II antikör düzeyleri kontrollara göre yüksektir ($P < 0.05$). Olgularımızın 3 ay sonraki serumlarının ortalama HSV-I antikör düzeyleri 0.5958 ± 0.030 olarak bulunmuştur. Kontrol grubunun 3 ay sonraki ortalama HSV-I antikör düzeyi 0.2973 ± 0.028 'dir. HSV-I antikör düzeyi 3 ay sonrada kontrollara göre anlamlı olarak yüksektir ($P < 0.05$).

İkinci serumlarda olgularımızın ortalama HSV-II antikör düzeyi 0.1878 ± 0.036 , kontrolların ise 0.1051 ± 0.036 olup, aralarındaki fark önemsizdir ($P > 0.05$).

Olgularımızın ve kontrol grubumuzun serumlarının hiçbirinde ANA saptanmamıştır (Tablo 4).

TARTIŞMA

Herpes Simplex virüsünün Behçet hastalığındaki rolü konusunda bir yaklaşımda bulunabilmek için hastalarımızın serumlarında HSV-I ve HSV-II'ye karşı oluşan IgG antikör

Tablo 1. Olgularımızın Aktif Dönem ve Remisyonadaki HSV Tip I, HSV Tip II Antikorları ve ANA Sonuçları

No	Adı ve Soyadı	Yaşı	1.Kontrol		2.Kontrol		ANA
			> 0.359= 4- HSV Tipi	>0.133= 4- HSV Tipi	> 0.359= + HSV Tipi	> 0.133= + HSV Tip II	
1	N.D.	31	0.450(+)	0.321(+)	0.664(+)	0.150(4-)	-
2	K.Ç.	32	0.476(4-)	0.098(-)	0.363(+)	0.112(-)	-
3	H.T.	30	0.443(4-)	1.24(+)	0.430(4-)	0.884(4-)	-
4	H.Ç.	35	1.371(+)	0.369(+)	0.988(+)	0.127(-)	-
5	O.Ö.	35	1.132(4-)	0.105(-)	0.937(4-)	0.109(-)	-
6	S.P.	38	1.430(+)	0.169(+)	0.459(4-)	0.096(-)	-
7	S.A.	59	1.429(4-)	0.739(4-)	0.800(+)	0.126(-)	-
8	A.Y.	35	0.960(4-)	1.20(+)	0.901(+)	0.306(4-)	-
9	H.B.	22	1.277(+)	0.195(+)	0.816(+)	0.129(-)	-
10	O.C.	31	0.913(4-)	0.326(4-)	0.825(+)	0.217(4-)	-
11	S.D.	19	0.343(-)	0.467(4-)	0.331(-)	0.501(4-)	-
12	C.Y.	22	1.430(+)	0.121(-)	0.982(+)	0.101(-)	-
13	E.Y.	55	1.430(+)	0.285(+)	0.955(+)	0.157(4-)	-
14	H.E.	32	0.897(+)	0.116(-)	0.376(+)	0.091(-)	-
15	A.B.	16	1.072(4-)	0.141(+)	0.617(+)	0.122(-)	-
16	C.A.	52	0.492(4-)	0.019(-)	0.369(+)	0.041(-)	-
17	C.A.	21	1.430(+)	0.075(-)	0.832(+)	0.123(-)	-
18	S.G.	23	1.113(+)	0.163(+)	0.694(+)	0.08(-)	-
19	M.D.	33	0.367(4-)	0.205(4-)	0.279(+)	0.116(-)	-
20	Z.K.	27	0.517(4-)	0.200(4-)	0.376(+)	0.109(-)	-
21	A.K	55	0.581(+)	0.156(4-)	0.389(+)	0.124(-)	-
22	A.T.	22	0.823(+)	0.527(4-)	0.447(+)	0.264(4-)	-
23	Ö.Ö.	39	0.537(4-)	0.166(+)	0.494(4-)	0.120(-)	-
24	S.A.	27	1.430(+)	0.14(+)	0.941(+)	0.159(4-)	-
25	N.S.	39	1.114(+)	0.103(-)	0.800(4-)	0.129(-)	-
26	E.M.	25	0.847(4-)	0.591(4-)	0.594(4-)	0.295(4-)	-
27	N.G.	19	0.693(4-)	0.192(4-)	0.499(4-)	0.085(-)	-
30	H.İ.	35	0.406(+)	0.131(-)	0.731(4-)	0.126(-)	-
31	G.A.	27	0.683(4-)	1.07(+)	0.509(4-)	0.980(4-)	-
32	Ş.K.	37	0.034(-)	0.414(-)	0.256(-)	0.008(-)	-
33	İ.G.	31	0.813(+)	0.130(-)	0.467(-)	0.109(-)	-
34	G.Ş.	34	0.753(+)	0.069(-)	0.369(4-)	0.074(-)	-
35	A.B.	31	0.624(+)	0.130(-)	0.479(4-)	0.088(-)	-
36	M.K	52	0.979(4-)	0.283(+)	0.418(4-)	0.098(-)	-
37	Y.P.M.	55	0.832(4-)	0.666(-)	0.395(4-)	0.091(-)	-
38	M.D.	33	0.367(4-)	0.205(4-)	0.212(4-)	0.101(-)	-
39	R.K	59	0.932(4-)	0.163(4-)	0.513(4-)	0.121(-)	-
40	C.Y.	24	1.209(+)	0.776(+)	0.956(4)	0.435(4-)	-
41	S.Y.	24	0.962(4-)	0.222(+)	0.609(4-)	0.201(4-)	-
42	E.K	29	0.446(4-)	0.269(4-)	0.469(4-)	0.819(-)	-
43	C.D.	28	0.461(+)	0.245(+)	0.516(4-)	0.109(-)	-
44	F.G.	59	0.550(+)	0.618(4-)	0.719(4-)	0.595(4)	-

düzeylerini 3 ay sonra aralıkla 2 kez ELISA yöntemi ile araştırdık.

HSV enfeksiyonu sonucu IgG antikorlarındaki artış normalde eliminasyon süresi sonunda azalarak, çok düşük değerlere veya müsbet değer

vermeyecek düzeylere düşer (14). Çalışmamızda olgularımızın HSV-I IgG antikor düzeyleri kontrol-lara göre önemli derecede yüksektir ve bu yükseklik 3 ay sonra da önemli olarak devam etmiştir. HSV-I IgG antikorlarının aktif Behçet'li olgularda

Tablo 2. Kontrol Grubumuzun HSV Tip I, HSV Tip II Antikorları ve ANA Sonuçları

No	Adı ve Soyadı	Yaşı	1.Kontrol		2.Kontrol		ANA
			>0.359=4- HSV Tipi	>0.133=4- HSV Tipi	>0.359=4- HSVTipI	>0.133=4- HSVTip II	
1	S.Ü.	31	0.310(+)	0.1050	0.319(4-)	0.117(-0)	-
2	L.A.	37	0.1950	0.1960	0.2560	0.101(-)	-
3	G.K.	28	0.2780	0.1210	0.2890	0.139(4-)	-
4	G.A.	19	0.421(4-)	0.136(4-)	0.404(4-)	0.124(4-)	-
5	G.T.	44	0.180(-)	0.1110	0.267(-)	0.1210	-
6	V.T.	18	0.113Q	0.141(+)	0.261 (-)	0.0120	-
7	G.G.	18	0.2620	0.1190	0.2140	0.0980	-
8	M.A.	52	0.388(+)	0.0780	0.370(4-)	0.0850	-
9	Y.B.	19	0.27S(-)	0.0910	0.321(-)	0.1140	-
10	G.Ş.	48	0.654(+)	0.142(4-)	0.701(4-)	0.198(4-)	-
11	C.E.	28	0.370(4-)	0.1090	0.342(4-)	0.1160	-
12	S.R.	31	0.446(+)	0.101(-)	0.361(4-)	0.0970	-
13	M.B.	34	0.3010	0.0970	0.212(-)	0.1080	-
14	N.A.	38	0.1260	0.0760	0.1040	0.0190	-
15	S.K	42	0.411(4-)	0.134(4-)	0.397(4-)	0.117(-)	-
16	E.B.	18	0.1060	0.1210	0.1210	0.097(-)	-
17	R.S.	26	0.2140	0.1080	0.2190	0.1140	-
18	K.M.	19	0.379(4-)	0.0890	0.1200	0.101(-)	-
19	T.R.	54	0.2960	0.065(-)	0.277(-)	0.0960	-
20	M.Ü.S.	38	0.397(4-)	0.0710	0.401(4-)	0.97(-)	-
21	G.Ü.	34	0.402(4-)	0.0940	0.409(4-)	0.1040	-
22	G.Y.	52	0.2660	0.1170	0.197(-)	0.071 (-)	-

Tablo 3. Behçetli Olgularımızı ve Kontrol Grubumuzun Ortalama HSV Antikor Düzeylerinin Karşılaştırılması

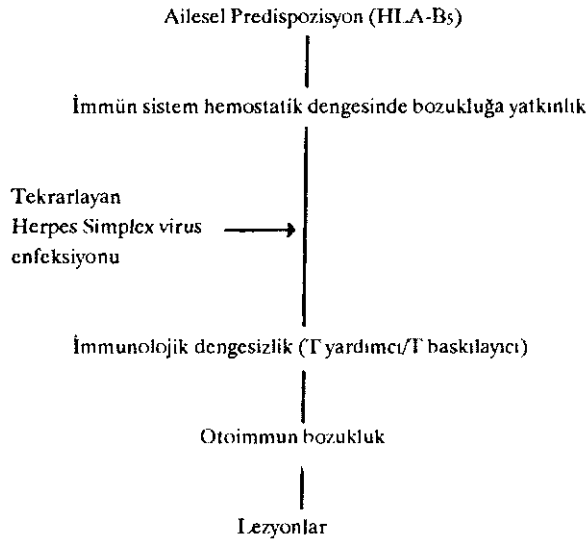
	I.Çalışma		II.Çalışma	
	HSV Tipi	HSV Tip II	HSV Tip I	HSV Tip II
Behçetli olgular	0.8460 ± 0.137	0.2951 ± 0.049	0.5958 ± 0.030	0.1878 ± 0.036
Kontrol grubu	0.3103 ± 0.030	0.1066 ± 0.006	0.2973 ± 0.028	0.1501 ± 0.036
P	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05

Tablo 4. Behçetli Olgularımızın ve Kontrol Grubumuzun Ortalama 3 Ay Ara ile Alınan Serumlarındaki Ortalama HSV Antikor Düzeylerinin Kendi Grupları İçinde Karşılaştırılması

	Behçetli olgular		Kontrol grubu	
	HSV Tipi	HSV Tip II	HSV Tipi	HSV Tip II
I. Çalışma	0.8460 ± 0.137	0.2951 ± 0.049	0.3103 ± 0.030	0.1066 ± 0.006
II. Çalışma	0.5958 ± 0.030	0.1878 ± 0.036	0.2973 ± 0.028	0.1501 ± 0.036
P	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

yüksek bulunması tekrarlayan herpetiform ülserlerin etkenlerinin HSV-I olabileceği fikrini akla getirmektedir (2). Bugüne kadar lezyonlardan virüs izole edebilmek için yapılan çalışmalar gerek teknik güçlüklerden, gerekse virüsün lezyonda devamlı bulunmaması özelliğinden dolayı olumlu sonuç vermemiştir (9,11,12). Bu konuda daha ileri

çalışmalara ihtiyaç olduğu bir gerçek olup, güncelliğini hala korumaktadır. Antikoronun iki ayrı ölçümde de yüksek bulunması açıklıyacağımız mekanizmayı düşündürür: Virüs konakçı hücre genomuna entegre olur ve bazı stimuluslarla konakçı hücre kendi DNA'sından virüs partikülleri sentezleyebilir. Bu partiküller antijenik karakter-



Şekil 1. Behçet hastalığının muhtemel immüpatogenezi

dedirler. Sonuçta yüksek düzeyde antikor cevabı oluşabilir. Nitekim Eglin bir çalışmasında Behçetli olguların %80'inde konakçı lenfositin DNA'sına entegre olmuş HSV-I partiküllerini hibridizasyon yöntemi ile idantifiye ettiğini bildirmektedir (12). Bizim olgularımızda da aynı mekanizma ile sürekli yüksek antikor düzeyi oluştuğu düşünülebilir. Colchicine tedavisi antikor düzeyini etkilememiştir.

HSV-II IgG antikorları birinci çalışmada kontrollara göre önemli derecede yüksek, ikinci çalışmada ise önemli derecede yüksek değildir. Bu yükseklik ve düşüş HSV-I ile ilgili gibi görünmekte ve bu durumun çapraz reaksiyona bağlı olabileceğini düşündürmektedir (8,14).

Hamza ve ark. yaptıkları bir çalışmada Herpes simplex virusuna karşı oluşan IgG antikorlarını

Behçet'li olgularda önemli derecede yüksek bulmuşlardır (5).

HSV enfeksiyonu sonucu lenfositlerin poliklonal aktivasyonu, virus viral antikor immun kompleksleri oluşması, hücre yüzeylerinde beliren neo-antijenler, gibi nedenlerle otoimmünite oluşabilir (15). Bilindiği gibi otoimmünite belli HLA antijenleri ile ilgilidir (13,15). Behçet'li olgularda da HLA B5 oranının yüksek olduğu bulunmuştur ve otoimmüniteyi başlatabilecek bir ailesel predispozisyonudur (12,16). Bu zeminde HSV immunolojik dengesizliğe, otoimmüniteye ve sonuç olarak lezyonlara sebep olabilir (Şekil 1).

Bu düşünceler ile yaptığımız çalışmada olgularımızda ANA saptayamadık. Tricario ve Wakefield de yaptıkları ayrı çalışmalarda Behçet'li hastaların hiçbirinde ANA saptıyamamışlardır (18,19). Diğer taraftan Chan bazı Behçet'li olgularda anti-retinal otoantikorlar saptamıştır (3). Behçet'li olgularda oral mukoz membranına karşı otoantikorlar saptandığı bildirilmiştir (10,12,16). Bu durumda hastalık esnasında lezyon oluşan dokularda otoantikor araştırmak konuya daha uygun bir yaklaşım olabilir.

Literatürde Behçet'li olguların lezyonlarında direkt immunofloresans yöntemi ile IgG ve kompleman tesbit edildiği bildirilmektedir (16). Bu durumda Behçet hastalığında ayrıca immun komplekslerin rolü açısından da incelemeler yapılabilir.

Bu bilgi ve görüşlerin sonucu olarak Behçet hastalığının etyopatogenezi HSV-I direkt etken olmasa bile, patolojik immun reaksiyonları başlatan etken veya etkenlerden biri olabilir kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Akoğlu T, Kozakoğlu H, Akoğlu E. Antibody to intermediate filaments of the cytoskeleton in patients with Behçet's disease. *Immun. Immunopathol.* 41,427432,1986.
2. Bozkurt M, Recurrent oral ülserlerde oral colchicine tedavisi. *Lepra mecmuası.* 16:3,159-163,1985.
3. Chan CC, Plestine AG, Nussenblatt RB, Roberge FG, Benzra D. anti-retinal autoantibodies in Vogt-Koyanagi-Harada syndrome, Behçet's disease and Sympathetic ophthalmia. *Ophtalmology.* 92:1025-1028,1985.
4. Denman AM, Hylton W, Pelton BK. international congre rence on Behçet's disease Abstract no:7,1985.
5. Hamza M, Hamzaoui K, Ayed K, Zribi A. Anticorps antiherpetiques dans la maladie de Behçet. 1 st. Mediterranean symposium on Behçet's disease. Abstract no: p-13,1988.
6. Heparken Y, Tıp'ta İstatistik Yöntem ve Uygulamaları. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Yayın, Sayı: 415,1981.
7. Jakobiec FA, Fekowitch J, Knowles II D.M.B. and T lymphocytes in ocular disease. *Ophtalmology,* 91, 6:635-654,1984.

8. Kucera LS, Myrvik QN. Fundamentals of Medical Virology. 2nd. Ed. LEA-Febriger, Philadelphia, P.P 74-83,1985.
9. Lehner T, Recurrent oral ulcers and Behcet's syndrome-Medicine Digest, 10(1): 12-22,1984.
10. Lehner T. **Behcet's** Syndrome and autoimmunity. Brit. Med.J., (1). 465467, 1967.
11. Nemlioğlu F, Deri Hastalıkları. 2. baskı. Ar Basım Yayım ve Dağıtım AŞ. İstanbul, pp.188-190,1979.
12. Nsouli T M, Nsouli SM, Zebede MS et all. Recurrent oral and genital ulcers and herpetic infection. Ann. Ellergy 57(3), 189-192,1986.
13. Roitt I, Brostoff J, Male D, Immunology Gower Medical Publishing, New-York pp. 23-5, 23-11,1985.
14. Rose NR, Friedman H. Manual of clinical Immunology 2nd. Ed. American Society for microbiology, Washington. pp.614-619,1980.
15. Theofilopoulos AW: Autoimmunity, in Stites DP, Stobo JD, Wells JW (ed). Basic and Clinical Immunology. Chapter 11, 6th Ed. Appleton and Lange, California, 1987.
16. Tolunay Ö, Behçet Hastalığı Patoloji ve Patogenezi. Türkiye Klinikleri. Behçet Özel Sayısı. 5:5, 397-402,1985.
17. Thompson RA. Techniques in clinical Immunology. Blackwell Scientific Publications, Oxford, pp. 85-116,1977.
18. Tricario G, Lapadula G, Covelli M, Numo R, Antinuclear antibodies (ANA) and antismooth muscle antibodies (ASMA) in Behcet's Disease. 1st Mediterranean symposium on Behcet's Disease. Abstract No: F 22, 1988.
19. Wakefield D, FASTER J, Penny R, Immunological abnormalities in patients with untreated retinal vasculitis. Brit. J. Ophtalmol 70, 260-265,1986.