

ROMATOİD ARTRİTLİ HASTALARDA HUMAN PARVOVİRUS B19 IgG VE IgM ANTİKOR DÜZEYLERİ

Ayhan Kamanlı*, İlkkan Çalaşyer**, Arzu Kaya*

ÖZET

Romatoid artrit (RA); etyolojisi tam olarak bilinmeyen, kronik bir multisistem hastalığıdır. Bu çalışmada Human Parvovirus B19 (HPV B19)'a karşı gelişen IgG ve IgM antikorları 29 RA'lı, 16 Reaktif artritli (ReA) hasta ve 32 sağlıklı bireyde ELİSA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile araştırıldı. Romatoid artritli hastalarda HPV B19 IgG pozitifliği %89.7, reaktif artritli hasta grubunda %87.5 ve sağlıklı kontrol grubunda ise %71.9 olarak bulundu. HPV B19 IgM pozitifliği RA'li hastalarda %20.7 (6), sağlıklı kontrol grubunda %6.3 (2) olarak bulunurken, reaktif artritli kontrol grubunda ise IgM pozitifliği saptanmamıştır. Sonuç olarak HPV B19 IgG ve IgM antikorlarının bulunma sıklığı yönünden RA'li hastalar ile kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamamıştır ($p>0.05$).

Anahtar Kelimeler: Romatoid artrit, Human Parvovirus B19

SUMMARY

HUMAN PARVOVIRUS B19 (HPVB19) IgG AND IgM LEVELS IN THE PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic multisystem disease with an unknown etiology. In this study, Human Parvovirus B19 (HPV B19) IgG and IgM antibodies were determined in 29 RA, 16 Reactive arthritis (ReA) patients and 32 healthy subjects with Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Anti-HPV B19 IgG antibodies were positive in 89.7 % of patients with RA, in 87.5 % of patients with ReA and in 71.9 % of control group. Anti-HPV B19 IgM antibodies were positive in 20.7 % of patients with RA and 6.3 % of healthy control group. There was no HPV B19 IgM positivity in patients with ReA. Consequently, there were no statistically significant differences between patients with RA and control groups with respect to HPV B19 IgG and IgM antibodies.

Key Words: Rheumatoid arthritis, Human Parvovirus B19

GİRİŞ

Romatoid artrit (RA) etyolojisi tam olarak bilinmeyen, periferik eklemlerde kronik, simetrik ve eroziv artrit ile karakterize, sistemik otoimmün bir hastalıktır (1,2,3).

Romatoid artrit patogenezinde, bugüne kadar çeşitli enfeksiyöz ajanların tetikleyici role sahip olduğu düşünülmüştür. Chlamydia trachomatis, Mycobacterium tuberculosis, Escherichia coli, Epstein

Barr virus, Human Parvovirus B19, Sitomegalovirus, Rubella en sık suçlanan ajanlardır (4).

HPV B19 ilk kez 1975 yılında asemptomatik kan donörlerinde saptanmıştır. HPV B19 bütün dünyada yaygın ve çok bulaşıcı bir virustur. Virusa yıl boyunca rastlanır. Ancak enfeksiyona en sık kış sonu, ilkbahar ve yaz başında rastlanır. Salgınlar da bu aylarda görülür. HPV B19'un geçiş yolu çoğunlukla solunum yoluylaadır. Ayrıca transplasental yolla ma-

* Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon AD

** Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD

ternal enfeksiyon fetüsü enfekte edebilir. Enfeksiyon esnasında viremi geliştiğinden kan veya faktör VIII'in transfüzyonu ile de geçiş olmaktadır (5).

HPV B19 artan bir sıklıkta değişik klinik tablolar da patojen olarak saptanmaktadır. HPV B19 çocukluk çağında eritema enfeksiyozum'a (5. hastalık) yol açar. İmmüno-supresyonlu veya hematolojik bozukluğu olan hastalarda aplastik krizler, çocuklukta geçici eritroblastopeni, hidrops fötalis ve fibromiyalji yapar. Özellikle erişkinlerde, primer HPV B19 enfeksiyonunu takip eden RA'e benzeyen ve kalıcı olabilen artropatiler bildirilmiştir. HPV B19 ile uyumlu artropati genellikle periferik, ani başlangıçlı, simetrik poliartrit şeklinde olup, nispeten iyi seyirli ve vakaların çoğu birkaç hafta içinde iyileşir (6,7,8,9). Bu durum gönüllü kişilerde HPV B19'un etkisini gösteren çalışmalarla da doğrulanmıştır (10). HPV B19 ile enfekte birkaç hasta aylar veya hatta yıllarca kalıcı olabilen eklem tutulumu gösterebilir ayrıca belirti ve bulguları kesin RA tanısı için gerekli tanısal kriterleri de taşımaktadır. İlaveten uzamış HPV B19 artropati vakalarında yüksek titrelerde romatoid faktör artışı tanımlanmıştır (11). Ayrıca HPV B19, tutulan eklemde bulunmuştur ve viral DNA, poliartraljili hastaların sinovial sıvılarında saptanmıştır (12). Bu bulgular HPV B19'un bazı RA vakalarında tetikleyici etiyolojik ajan olması ihtimalini arttırmıştır.

HASTALAR VE YÖNTEM

Çalışma gruplarının seçilmesi ve örneklerin alınması

Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Kliniğinde ekim 1998 ile mayıs 1999 tarihleri arasında American Rheumatism Association (ARA) kriterlerine göre kesin tanı konularak, takip ve tedavisi yapılan 29 aktif RA'li hasta (26 kadın, 3 erkek) ile kontrol grubu olarak seçilen 16 reaktif artrit'li hasta (10 kadın, 6 erkek) ve 32 sağlıklı kişi (22 kadın, 10 erkek) çalışmaya alındı. Hastalar-

da ve kontrol grubunda HPV B19'a karşı oluşan antikorların araştırılması için 5 ml periferik venöz kan örneği alındı, serumları ayrılarak incelemeye kadar -20°C'de saklandı.

Özgül Antikorların Saptanması

Hasta ve kontrol grubundan anti-HPV B19 antikorlarının saptanması için Serion Elisa Classic Parvovirus B19 IgG, IgM (Institut viron-serion GmbH 97072 Würzburg, Germany) mikro ELISA kiti kullanıldı.

HPV B19 IgG ve IgM Test yöntemi

1. Serumlar dilüsyon tamponu ile 1/100 oranında sulandırıldı (1000 ml dilüsyon tamponu + 10 ml serum).
2. Dilüe edilmiş örnekler, kullanıma hazır kontrol ve standart serumlardan 100 ml uygun kuyucuklara konuldu ve 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.
3. 30 kat sulandırılan yıkama solüsyonu ile ELP-40 Microplate Strip Washer (Bio-tek instruments) otomatik yıkayıcıda üç kez yıkandı.
4. 100 ml IgG veya IgM konjugatı eklenerek 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.
5. 3. adımdaki işlem tekrarlandı.
6. 100 ml substrat solüsyonu eklenerek 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.
7. 100 ml stop solüsyonu eklenerek Elx800 Universal Microplate Reader (Bio-tek instruments) ELISA okuyucusunda 405 nm'de okutuldu.
8. Saptanan optik dansiteler üniteye çevrilerek IgG için >45 Ü/ml, IgM için >17Ü/ml değerleri pozitif olarak kabul edilirken, IgG için <35 Ü/ml, IgM için <13 Ü/ml değerleri negatif olarak kabul edildi.

Hasta ve kontrol grubundan eritrosit sedimentasyon hızı Greiner Labortechnik Sed Rate Screener sedimentasyon cihazında çalışıldı. RF ve CRP değerlerinin saptanması için Sima Chemicals S.A (08030 Barselona-Spain) lateks aglütinasyon kitleri kullanıldı. 50 ml serum örnekleri ile 1 damla

test solüsyonu karıştırıldı, pleyt rotasyon hareketi ile ileri geri hareket ettirilerek reaksiyon 2 dakika sonra değerlendirildi. Gözle görülebilen aglütinasyon varlığında reaksiyon pozitif olarak değerlendirildi. RF için 8 Ü/ml, CRP için 6 Ü/ml referans değerine karşılık geldiği kabul edildi. Pozitif örneklerin seri dilüsyonlarla titreleri kalitatif olarak saptandı.

İstatistik yöntem

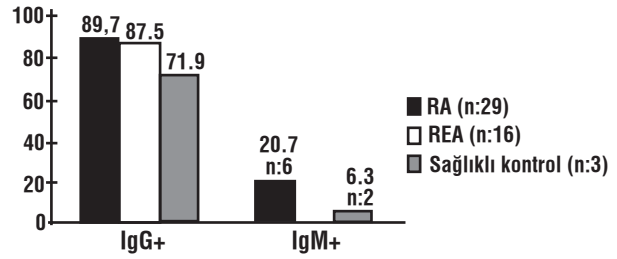
Windows ortamında kullanılan SPSS programı yardımıyla ki-kare, fisher exact testi ve Student t testi kullanıldı.

BULGULAR

Romatoid artritli hastaların yaşı 29 ile 63 (ortalama 47 ± 10), reaktif artritli hastaların yaşı 15 ile 62 (ortalama 31 ± 14), sağlıklı kontrol grubunun yaşı 21 ile 69 (ortalama 42 ± 14) arasında değişmekte idi. Yaş ortalamaları arasında farklılık bulunmadı. Romatoid artritli hastalarda ortalama hastalık süreleri, RF pozitifliği yüksek bulundu.

Romatoid artritli hastaların 26 (%89.7)'sında HPV B19 IgG ve 6 (%20.7)'sında IgM antikorları saptandı. Reaktif artritli ve sağlıklı kontrol grubunda ise sırasıyla 14 (%87.5) ve 23 (%71.9) IgG pozitifliği saptanırken sağlıklı kontrol grubunun 2 (%6.3)'sinde IgM pozitifliği gözlemlendi, Reaktif artritli kontrol grubunda IgM pozitifliğine rastlanmadı. HPV B19 IgG ve IgM antikorları bulunma sıklığı yönünden RA'lı hastalar ile kontrol grupları arasında, IgM pozitifliği yüzde olarak farklı bulunmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0.05$). HPV B19 antikorlarının dağılımı Şekil 1'de gösterilmiştir.

29 romatoid artritli hastanın 18 (%62)'inde RF pozitif, 11 (%38)'inde RF negatif olarak saptanmıştır. RF pozitif hastaların 17 (94.4)'sinde HPV B19 IgG antikorları, 4 (%22.2)'ünde HPV B19 IgM antikorları saptanmıştır. RF negatif hastalarda bu oran-



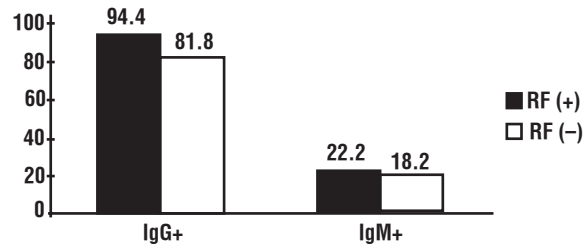
Şekil 1: RA'lı hastalarda ve kontrol gruplarında HPV B19 antikorları pozitifliğinin % dağılımı (IgG+, $p > 0.05$ Ki-kare testi) (IgM+ $P > 0.05$, Fisher's Exact test)

lar sırasıyla 9 (%81.8) ve 2 (%18.2) olarak bulunmuştur. HPV B19 IgG ve IgM antikorlarının bulunma sıklığı yönünden RF pozitif ve RF negatif romatoid artritli hastalar arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark saptanamadı ($p > 0.05$). RF pozitifliğine göre HPV B19 antikorlarının dağılımı Şekil 2'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Romatoid artrit etiyopatogenezi diğer birçok romatolojik hastalıkta olduğu gibi bugün de net olarak anlaşılamamıştır. Ancak immunogenetik, enfeksiyöz etkenler, hormonal ve çevresel bir takım faktörlerin rolü olduğu kabul edilmektedir (13).

Otoimmün hastalıkların, immün yanıtta bozukluk sonucunda ya da bir enfeksiyon sonrasında ge-



Şekil 2: RA'lı hastalarda ve kontrol gruplarında RF pozitifliğine göre HPV B19 antikorları pozitifliğinin % dağılımı ($p > 0.05$)

liştiği düşünölmektedir. Başlangıçta hastalık tek bir eksojen antijen yada otoantijen tarafından tetikle-nebilmekle birlikte, kronik inflamatuvar yanıt geliş-tikten sonra salgılanan self antijenler ana tetikleyici antijenin yerine geçerek patolojik süreci devam et-tirebilirler. İmmün yanıtın ilk basamağı bir peptid di-zisinin antijen sunan hücreler tarafından T hücrele-rine sunulmasıdır. T hücreleri, antijenleri reseptör-leri aracılığıyla tanırlar. En çok bulunan reseptör CD4+ T hücre reseptörüdür. Antijenlerin T hücre reseptörlerine sunulmasında MHC Class II mole-külleri görev almaktadır. Romatoid artritli hastalar-da sinovyum, sistemik immün yanıt oluşturan ef-fektör bir organ gibi çalışır. Sinovial eklem aralığın-da T hücreleri, makrofajlar ve plazma hücreleri gibi inflamasyon hücreleri birikir. Sinovitin ciddiliğı ve gelişimi bu hücrelerin birikimi ve aktivasyonuna ve sitokinlerin salınımına bağılıdır. Kronik inflamatuvar sinovit, sinoviyada hücre sayısında artış, perivaskü-ler alanda lenfosit ve plazma hücrelerinin birikimi, sinoviyada yeni damarların oluşumu ve nihayet konnektif doku artışı ile karakterizedir (4).

Enfeksiyon etkenlerinin artrit oluşturmada değişik teoriler öne sürölmektedir; düşük düzeyde de olsa dirençli olarak devam eden enfeksiyonlar aynı zamanda artritogenik antijen salgılayabilirler, ya da sitokin salınımına neden olabilirler. Bakteri, virüs proteinleri ile doku proteinleri arasında çapraz reaksiyon gelişebilir (4).

Human Parvovirus B19 artan bir sıklıkta değişik klinik tablolarda patojen olarak saptanmaktadır. HPV B19 enfeksiyonunu takip eden romatoid ben-zeri artrit vakaları, HPV B19'un RA'in başlangıcın-da etyolojik ajan olarak önemini arttırmıştır (14). Ayrıca, RA'li hastaların, sinovyumlarında parvovi-rusa benzeyen küçük partiküller de izole edilmiştir ve farklı RA'li hastalarda bu virusa karşı oluşmuş poliklonal antikorlar tespit edilmiştir. Ancak, pek az sayıda hastada bunun tespit edildiğı unutulmamalıdır ve klasik RA'in bir markeri olan RF, HPV B19

artropatili hastaların sadece çok az bir kısmında bildirilmiştir. HPV B19 RA'ya benzer eklem bulgula-rı veren ve bu hastalıkla karıştırılabilecek bir tablo oluşturmaktadır (15).

Bu çalışmada, RA ve HPV B19 arasındaki ilişki incelendiğinde RA'li grup, ReA'li ve sağlıklı grupla-ra göre istatistiksel anlamda farklı IgG pozitifliğı sunmamıştır. IgM pozitifliğı RA'li hastalarda yüzde olarak yüksek bulunmasına rağmen istatistiksel an-lamda fark bulunmadığı göröldü. Bu farkın hasta ve kontrol sayısının az olmasına bağılı olabileceğini düşünölebilir. Bu nedenle daha çok sayıda bireyler-de çalışılması gerekmektedir. Saal ve arkadaşları-nın (12) osteoartritli hastalardan alınan sinovyal bi-opsi örneklerinin %16.7'sinde ve RA'li hastalardan alınan sinovyal biyopsi örneklerinin %75'inde HPV B19'un DNA'sını göstermişlerdir. Cohen ve arka-daşları (16) ise monoklonal antikorların kullanıldığı radioimmünoassay yöntemi ile 39 RA'li hastanın 36 (%92.3)'sında ve kontrol grubu olarak 69 hastane personelinin 42 (%60.9)'sında HPV B19'a karşı olu-şan IgG antikorlarını göstermişlerdir. Buna karşın Lefrere ve arkadaşları (17), counter immunoelkt-roforez kullanarak yaptıkları çalışmada, RA'li has-talar ile sağlıklı popölyasyon arasında HPV B19 se-ropozitifliğı yönünden fark bulamamışlardır. RA'li hastalarda %33.3, sağlıklı popölyasyonda %25.3 olarak bulmuşlardır. Nikkari ve arkadaşları da (18) çalışmalarında, HPV B19 seropozitifliğı yönünden RA'li hastalarla, kontrol grubu arasında fark saptayamazken, RA'li hastalarda %3, kontrol grubunda %3.2 olarak bulmuşlardır. Bu sonuçlar bizim çalış-mamızla uyumludur. Farklı topluluklarda yapılan çalışmalar farklı ve karşıt sonuçlar verebilmektedir. Aradaki temel farklılık, nüfus kümelerinin farklı HLA allelerine sahip olmaları ve APC işlevlerinin top-lumdan topluma değişmesi şeklinde yorumlanabilir.

Yapılan bu çalışmada, HPV B19'a karşı oluşan antikorların sıklığı ile RA arasında bir ilişki olmadı-ğı gözlemlenmiş ve HPV B19 enfeksiyonunun top-

lumda sık ve yaygın olarak bulunması nedeniyle, HPV B19 infeksiyonunun RA ile birlikteliğinin tesadüf sonucu olabileceği yargısına varılmıştır.

Bugüne kadar, RA etyopatogenezinde antijenik benzerliklerin yol açtığı çapraz reaksiyonlardan, sitokinlerin güdülediği T hücre artışına bağlı hücre- sel sitotoksik yanıt kadar pek çok farklı mekanizma suçlanmış ve araştırılmıştır. Romatoid artritli

hastalarda, HPV B19 karşı gelişmiş IgG ve IgM antikorları araştırılan bu çalışmada, serolojik olarak yapılan incelemelerde kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Gelecekte yapılacak çalışmaların diğer muhtemel patojenlerinde etraflı incelenmesi sonucu romatoid artrit patogenezinin aydınlanmasına katkıda bulunacağı düşünülebilir.

KAYNAKLAR

1. Katz WA. Rheumatoid arthritis. In: Diagnosis and Management of Rheumatic Diseases. Ed. Katz WA,. Philadelphia: Lippincott. 1998;380-96.
2. Ravinder N, Feldmann MM. Rheumatoid arthritis. In: Oxford textbook of Rheumatology, Maddison P.J, Isenberg D.A, Woo P, and Glass D.N. Eds. Oxford University Press, New York. Second edition 1998; 1004-27
3. Sergent JS Polyarticular arthritis. In : Textbook of Rheumatology. Kelly WN, Harris ED, Ruddy S, Sledge CB, Eds. WB Saunders Co. Philadelphia. 1993; 381-4
4. Kavuncu V. Romatoid artrit etyopatogenezi. Türkiye Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon dergisi. Özel sayı. 1998; 66-8.
5. Akan E. Genel ve Özel Viroloji. Saray yayınları, İzmir. 1994;17-19
6. Leventhal LJ, Naides SJ, Freundlich B. Fibromyalgia and Parvovirus infection. Arthritis Rheum 1991; 34:1319-24.
7. Nikkari J, Meurman O, Wanne O. Parvovirus B₁₉ and transient erithroblastopenia of childhood. Br J Haematol 1993;83:679.
8. White DG, Woolf AD, Mortimer PP, et al. Human Parvovirus arthropathy. Lancet 1985; 101: 419-21.
9. Young N. Hematologic and hematopoietic consequences of B19 Parvovirus infection. Semin Hematol 1988; 25: 159-72.
10. Anderson MJ, Higgins PG, Davis LR, et al. Experimental parvoviral infection in humans .J Infect Dis 1985;152: 257-65
11. Luzzi GA, Kurtz JB, Chapel H. Human parvovirus arthropathy and rheumatoid factor. Lancet. 1985; 1: 1218.
12. Saal JG, Steidle M, Einsele H, et al. Persistence of B19 parvovirus in synovial membranes of patients with rheumatoid arthritis. Rheumatol Int 1992;12:147-51.
13. Gümüşdiş G. Bağ dokusu hastalıkları. In, Klinik Romatoloji, Gümüşdiş G. ve Doğanavşargil E., Eds, Deniz yayınları, İstanbul. S. 1999; 269-70.
14. Naides SJ, Field EH. Transient rheumatoid factor positivity in acute Human parvovirus B19 infection. Arch Intern Med 1988;148:2587-89.
15. Ataman Ş, Ergin S. Romatoid artrit etyopatogenezi. Romatizma 1996; 11: 191-9
16. Cohen BJ, Buckley MM, Clewley JP, et al.. Human parvovirus infection in early rheumatoid and inflammatory arthritis. Ann Rheum Dis 1986; 45: 832-8.
17. Lefrere JJ, Meyer O, Merkes CJ, et al. Human parvovirus and rheumatoid arthritis. Lancet 1985; 1: 982.
18. Nikkari S, Luukkainen R, Möttören T, et al. Does parvovirus B19 have a role in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 1994; 53: 106-11.