

Araştırma Makalesi / Research Article

Malignitesi ve lenfoproliferatif hastalığı olan hastalarda human herpesvirüs-8 antikor prevalansı

Human herpesvirus-8 antibody prevalence in patients with malignancy and lymphoproliferative diseases

Neziha Yılmaz¹, Gülnur Tarhan², Salih Cesur³, Selami Koçak Toprak⁴

¹Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Yozgat, Türkiye

²Adıyaman Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adıyaman, Türkiye

³SBÜ Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Ankara, Türkiye

⁴Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, Ankara, Türkiye

ÖZ

Amaç: Bu çalışmada değişik maligniteleri olan non-Hodgkin lenfoma, Hodgkin lenfoma, akut lenfosit lösemi, akut myelositer lösemi, multipl myelom, kronik myelositer lösemi hastalarında human herpesvirüs-8 (HHV-8) IgM ve IgG pozitiflik oranlarının karşılaştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya 50 maligniteli hasta ile 8 sağlıklı birey olmak üzere 58 kişi dahil edildi. Hasta ve kontrol grubunda HHV-8 IgM ve HHV-8 IgG antikorları indirekt floresan antikor (IFA) yöntemiyle araştırıldı. İstatistiksel analizler SPSS programı kullanılarak yapıldı. İstatistiksel değerlendirmede Fisher'in Kesin Ki-kare testleri kullanıldı. İstatistiksel olarak $p < 0,05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Maligniteli hastalarda HHV-8 IgM antikor pozitifliği %20 (10/50) oranında saptanırken, kontrol grubunda HHV-8 IgM pozitifliği saptanmadı. Maligniteli hastalarda HHV-8 IgG pozitifliği %56 (28/50) oranında saptanırken, kontrol grubunda ise %50 (10/16) oranında saptandı. HHV-8 IgM pozitifliği hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksekti. HHV-8 Ig M pozitifliği en fazla AML saptanırken, HHV-8 IgG pozitifliği en fazla MM hastalarında saptandı.

Sonuç: Maligniteli hastalarda saptadığımız HHV-8 IgM ve HHV-8 IgG pozitiflikleri reaktivasyon veya reenfeksiyonla ilişkili olabilir. HHV-8 virüsünün maligniteli hastalardaki klinik öneminin belirlenebilmesi için farklı maligniteleri olan daha fazla sayıda olguyla yapılacak ve virüs DNA'sının da moleküler yöntemlerle (PZR vb.) araştırıldığı başka çalışmalara gereksinim olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Malignite, HHV-8, IgM, IgG, indirekt floresan antikor yöntemi

ABSTRACT

Objective: The purpose of this study is to compare the human herpesvirus-8 (HHV-8) IgM and IgG positivity rates in patients with different malignancies, including non-Hodgkin lymphoma, Hodgkin's lymphoma, acute lymphocytic leukemia, acute myelocytic leukemia, multiple myeloma, and chronic myelocytic leukemia.

Material and Method: Totally 58 individuals, fifty patients with malignancies and eight healthy individuals were included in the study. Indirect fluorescent antibody method was used to analyze HHV-8 IgM and HHV-8 IgG antibodies in patient and control groups. Statistical analysis was conducted with SPSS software. Fischer's Exact Ki-kare test and the Mann-Whitney U-test were used in the statistical evaluation. P values ≤ 0.05 were considered statistically significant.

Findings: In the patient group, 20% of the patients (10/50) were HHV-8 IgM positive. On the other hand, none of the individuals in the control group were HHV-8 IgM positive. In the patient group, 56% of the patients (28/50) were HHV-8 IgG positive, whereas 50% of the individuals (8/16) in the control group were HHV-8 IgG positive. HHV-8 IgM positivity was significantly higher in the patient group when compared to the control group. The highest level of HHV-8 IgM positivity was detected in AML patients, whereas MM patients had the highest level of HHV-8 IgG positivity.

Conclusion: HHV-8 IgM and HHV-8 IgG positivity in patients with malignancies can be associated with reactivation or reinfection. Further clinical studies should be carried out on higher number of patients with different malignancies to identify the clinical significance of HHV-8 in these patients.

Keywords: Malignancy, HHV-8, IgM, IgG, indirect fluorescent antibody method

Sorumlu Yazar: Salih Cesur, SBÜ Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, Sakarya Mah., Ulucanlar Cad., No: 89, 06230, Altındağ, Ankara, Türkiye

E-posta: scesur89@yahoo.com

Geliş Tarihi: 15.06.2019 **Kabul Tarihi:** 23.07.2019 **Makale ID:** 578356

Cite this article as: Yılmaz N, Tarhan G, Cesur S, Toprak S. Malignitesi ve lenfoproliferatif hastalığı olan hastalarda human herpesvirüs-8 antikor prevalansı. Anadolu Güncel Tıp Derg 2019; 1(4): 81-84.

GİRİŞ

Human herpesvirüs-8 (HHV-8); ilk defa AIDS'li olgularda sıkça gelişen Kaposi sarkomu lezyonlarında tanımlanmış, Herpesviridae ailesinin yeni bir üyesidir. HHV-8 enfeksiyonunun prevalansı ve insandan insana bulaşma yolları tam olarak bilinmemektedir. Tükürükte nadir olarak tespit edilmiştir. Kaposi sarkomunun etkeni olması nedeni ile virusun daha çok seksüel yol ile geçtiğinden şüphelenilmektedir. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda HIV-pozitif olgularda Kaposi sarkoma ve HHV-8 arasındaki kesin ilişki gösterilmiştir. Bütün Herpes viruslar latent ve tekrarlayan enfeksiyonu yapma eğilimindedirler. Bu viruslar özellikle immün sistemin baskılandığı durumlarda tekrar aktive olabilmektedirler. HHV mononükleer hücrelerde yerleşebilir ve B lenfositlerde latent olarak kalır (5). HHV-8 Kaposi sarkomunun (KS) etkenidir ancak plazmablastik lenfoma, multicentric Castleman hastalığı (MCD), primer efüzyon lenfoması (PEL) ve çeşitli atipik lenfoproliferatif maligniteler ile ilişkilendirilmiştir (1-4,6). Altta lenfoproliferatif hastalıkları olan ve bu virüsle enfekte olan kronik kan hastalıkları olan bireyler maligniteler için risk altındadır. Multipl myelom olgularında HHV-8'in rolü üzerinde duran yayınlar mevcut olmasına rağmen, bunun tam aksi görüşü savunan yayınlar da mevcuttur (6).

GEREÇ VE YÖNTEM

Örnek grubu

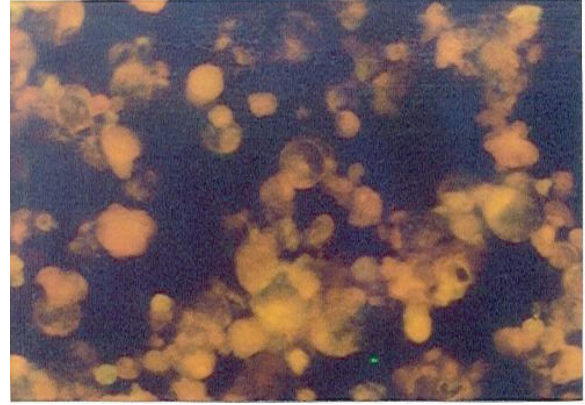
Bu çalışmada, Sağlık Bakanlığı Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji EAH ve Gülhane Askeri Tıp Akademisi Hematoloji Servisi'nde onkolojik tanısı hematolojik, radyolojik ve patolojik bulgular ile doğrulanmış lenfoproliferatif bozukluğu olan 11 NHL, 12 HL, 12 ALL, 7 MM, 6 ML, 2 KML toplam 50 maligniteli hastada HHV-8 IgG ve IgM antikorları IFA yöntemi ile araştırıldı. Erişkin kontrol grubu olarak hematolojik tablosu laboratuvar bulguları ile normal sınırlarda olduğu doğrulanmış sağlıklı erişkin seçildi.

Serum Örnekleri

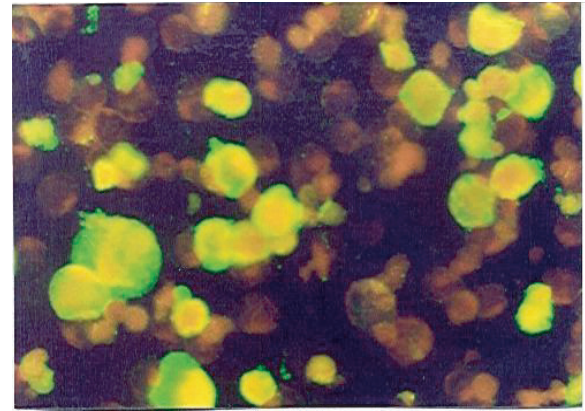
Hastalardan ve kontrol grubundan alınan kanlar, oda sıcaklığında 1-2 saat bekletildikten sonra 3000xg'de 10 dk santrifüj edilerek serumlarına ayrıldı. Her kişi için çift serum örneği alınıp, serumlar çalışma gününe kadar -20 °C'de saklandı.

HHV-8 Antikorlarının Saptanması

Çalışmada kullanılan serumlarda IFA tekniği ile kantitatif olarak anti HHV-8 IgG ve anti HHV-8 IgM antikorları ölçüldü. Bunun için, HHV-8 IgG ve HHV-



Resim 1. HHV-8 antikorlarının IFA testi ile negatif görünümü.



Resim 2. HHV-8 antikorlarının IFA testi ile pozitif (++++) görünümü.

8 IgM IFA ticari test kiti (Biotrin International, Dublin, Ireland) kullanıldı. Karanlık odada floresan mikroskopta 200-500X büyütmede görüntülerin değerlendirilmesinde, floresan reaksiyonun yoğunluk derecesi temel alındı. Siyah zemin üzerinde yeşil-sarı floresan renk veren hücreler (+), vermeyen hücreler negatif olarak kabul edildi. Floresan reaksiyonun derecesine göre (+) hücreler: çok parlak +++++, parlak +++, orta derecede parlak ++, zayıf +, floresan renk göstermeyen - olarak derecelendirildi (Resim 1,2).

İstatistiksel Analiz

Tüm istatistiksel çalışmalar "SPSS (statistical packages for social sciences) for MS Windows Release 5.0" programı ile, Fisher'in Kesin Ki-kare testi kullanılarak yapıldı. İstatistiksel olarak p<0,05 değerleri anlamlı kabul edildi.

Etik Durum

Çalışma için SBÜ Dr. Abdurrahman Yurtaslan Ankara Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Yerel Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alınmıştır.

BULGULAR

Tüm çalışma grubunda HHV-8 IgG ve HHV-8 IgM antikor pozitiflik oranları Tablo 1’ de gösterildiği gibi, sırası ile %56,89 ve %17,24 olarak bulundu.

İstatistiksel olarak kontrol grubu ve hasta grubu birbiri ile karşılaştırıldığında, HHV-8 IgG antikor pozitifliği bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Bununla birlikte IgM pozitifliği bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p < 0.0001$).

HHV-8 IgG ve HHV-8 IgM antikor seropozitifliği, hasta gruplarına göre değerlendirildiğinde, en yüksek IgG antikor pozitifliği %85,71 ile MM olgularında saptandı. Bu oran diğer gruplarda % 50 HL, %45,45 NHL, %66,66 ALL, %33,33 ML ve %50 KML olarak gözlemlendi. Tüm hasta grupları birbiri ile ve kontrol grubu ile istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlemlenmedi. Gruplar IgM pozitifliği yönünden değerlendirildiğinde ise en yüksek oran %33,33 ile ML grubunda saptanırken, KML olgularında antikor yanıtı saptanmadı. Diğer olgularda bu oran %16,66 HL, %18,18 NHL, %25 ALL ve %14,28 MM olarak bulundu (Tablo 2). KML ve diğer gruplardan elde edilen sonuçlar ista-

tistiksel olarak değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu.

TARTIŞMA

HHV-8; B lenfositleri tutan ve B lenfositlerde latent olarak kalabilen bir herpes virüs olup Kaposi Sarkomu ve lenfoid doku proliferasyonu ile ilişkili onkojenik bir DNA virüsüdür. HHV-8 latent veya litik antijenleri kullanılarak IFA testi ile yapılan sero-epidemiolojik çalışmalarda, HHV-8 antikorları endemik veya AIDS ile ilişkili kaposi sarkomu (KS) olgularının %90’ından fazlasında gösterilmiştir. Kan donörlerinde %25, çocuklarda ise %8 oranında bildirilmiştir (4-6).

HHV-8’in yapısal proteinleri ve enzimleri yanı sıra tümör oluşumunda etkili olabilecek hücrel proteinleri kodlayabilen bir genomu da mevcuttur. Bunlar içerisinde siklin D, interlökin-6, bcl-2 homologue, CC kemokinler, G protein reseptörü ve kompleman bağlayıcı protein gibi yapılar yer alır. Primer efüzyon lenfoması hücrelerinde IL-6 ve clylin D’nin latent kaldığı gösterilmiştir. Bu lenfoma türü AIDS olgularında tanımlanmıştır. Primer efüzyon lenfoması olgularının tümünde latent HHV-8 enfeksiyonu mevcuttur. HHV-8’in neden olduğu diğer bir lenfoproliferatif hastalık multisentrik Castleman hastalığıdır. Bu hastalıkta HHV-8 pozitifliği genellikle HIV pozitifliği ile birlikte (5). İmmün sistemin çeşitli nedenler ile baskılandığı durumlarda bu virusların yaygın olarak enfeksiyon yaptıkları yapılan çalışmalarda belgelenmiştir. Maligniteli hastalar normal popülasyona oranla herpesvirus enfeksiyonlarına karşı daha fazla risk altındadırlar. Tedavi sırasında uygulanan kan ve kan ürünü transfüzyonları bir enfeksiyon kaynağı olabileceği gibi, gerek malignitenin kendisinin gerekse kullanılan kemoterapötiklerin ve radyoterapinin yol açtığı immünsüpresyon sonucu enfeksiyonlara karşı duyarlı hale gelmektedirler.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, maligniteli hastalar ile kontrol grubu HHV-8 IgG ve HHV-8 IgM antikor seropozitifliği yönünden birbiri ile karşılaştırılarak HHV-8’in maligniteli hastalarda ya direkt ya da indirekt rolü araştırılmıştır. Ancak kesin sonuçta varılamamıştır.

Çalışmamızda, kontrol grubu ile hasta grubu arasında HHV-8 IgG seropozitiflik açısından anlamlı bir fark bulunmazken, HHV-8 IgM antikor pozitifliği yönünden anlamlı bir fark saptanmıştır. Bu durum aktif enfeksiyonun göstergesi olabileceği gibi başka nedenlere bağlı olarak da pozitif saptanabilir. Başlıca IgM pozitifliğine neden olan durumlar; reenfeksiyonlar, reaktivasyonlar, poliklonal B hücre aktivasyonu sonucu farklı viral etkenlere karşı özgül olmayan IgM pozitiflikleri ve aynı grupta yer alan mikroorganizmalarla enfeksiyon sonucu çapraz re-

Tablo 1. Tüm çalışma grubunda HHV-8 IgG ve IgM antikor pozitiflik oranları.

ÇALIŞMA GRUPLARI	HHV-8 Antikorları			
	IgG		IgM	
	Pozitif	(%)	Pozitif	(%)
Kontrol Grubu	5/8	50	0/8 (0/16)	0
Maligniteli hastalar	28/50	56	10 / 50	20
Toplam	33/58	56,89	10/58	17,24

Tablo 2. Maligniteli hastalarda HHV-8 IgG ve IgM antikorlarının sayı ve yüzde dağılımı

ÇALIŞMA GRUPLARI	HHV-8 Antikorları	
	IgG	IgM
	Pozitif %	Pozitif %
Kontrol Grubu (n: 8)	62,5	0
Kanserli Hastalar (n:50)	50	16,66
HL	45,45	18,18
NHL	66,66	25
ALL	33,33	33,33
ML	85,71	14,28
MM	50	0
KML	56,89	17,24
Toplam		

aksiyonlara bağlı olarak (örneğin HSV-1 enfeksiyonunda oluşan IgM tipi antikorlar HSV-2 ile de reaksiyon verebilir) da IgM pozitifliği saptanabilir (8).

Çalışmamızda sonuçlar, IFA tekniği kullanılarak kalitatif olarak elde edildiği için, hasta grubu ile kontrol grubunun serum antikor titreleri açısından karşılaştırma yapılamamıştır. Ancak hasta gruplarında HHV-6 IgG ve HHV-6 IgM seropozitiflik oranlarının , kontrol grubuna göre daha yüksek bulunması, hastaların immün sisteminin HHV-8 ile daha sık olarak uyarıldığını göstermektedir. Bu uyarılma reenfeksiyonlarla olabildiği gibi, reaktivasyonlar ile de olabilir. Gelişen reenfeksiyonlarda ve reaktivasyonlarda antikor cevabı, IgG antikor miktarında ani artış ve IgM antikorlarının yeniden oluşması ile karakterizedir. Çalışmamızda kontrol grubunda HHV-8 IgM seropozitiflik oranı %0 iken, bu oran hasta gruplarında %17,24 olarak bulunmuştur. Bu yüzden, hasta grubundaki antikor yüzde oranlarının fazlalığının reaktivasyonlar veya reenfeksiyonlar nedeni ile olabileceği düşüncesindeyiz.

SONUÇ

HHV-8 virusunun maligniteli hastalardaki klinik öneminin belirlenebilmesi için farklı maligniteleri olan daha fazla sayıda olguyla yapılacak ve virüs DNA'sının da moleküler yöntemlerle (PZR vb.) araştırıldığı başka çalışmalara gereksinim olduğu görüşündeyiz.

MADDİ DESTEK VE ÇIKAR İLİŞKİSİ

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların herhangi bir çıkarı dayalı ilişkisi yoktur.

KAYNAKLAR

1. Friborg J, Kong WP, Flowers CC, et al. Distinct biology of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus from primary lesions and body cavity lymphomas. *J Virol* 1992; 72: 10073-82.
2. Alberti LD, Porter SR, Piateli A, Scully CM, Teo CG. Human herpesvirus 8 and sarcoidosis. *The Lancet* 1998; 351: 1589-90.
3. Zhang XQ, Fitzpatrick L, Campbell TB, et al. Comparison of prevalence of antibodies to human herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus) in Brazil and Colorado. *J Infect Dis* 1998; 178: 1488-91.
4. Tisdale JF, Stewart AK, Dickstein B, et al. Molecular and serological examination of the relationship of human herpesvirus 8 to multiple myeloma: orf sequences in bone marrow stroma are not restricted to myeloma patients and other regions of the genome are not detected. *Blood* 1998; 92: 2681-7.
5. Tedeschi R, Paoli PD, Schulz TF, Dillner J. human serum antibodies to a major defined epitope of human herpesvirus 8 small viral capsid antigen. *J Infect Dis* 1999;

179: 1016-20.

6. Gessain A, Mauclore P, Beveren MV, et al. Human herpesvirus 8 primary infection occurs during childhood in Cameroon, Central Africa. *Int J Cancer* 1999; 81: 189-92.
7. Alhuqayl AA, Shakoor Z, Almogren A, Sghiri R, Hasanato R, Abdulaziz R. Clinical profile of Saudi patients with multiple myeloma. *J Nature Sci Med* 2019; 2: 86.
8. Us DA. Serolojik tanı yöntemleri. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 2006, 9-12