

KISA BİLDİRİ:
KRONİK İDİOPATİK TROMBOSİTOPENİK PURPURA OLGULARINDA
PARVOVİRUS B19 SEROPREVALANSI

SHORT COMMUNICATION:
SEROPREVALENCE OF PARVOVIRUS B19 IN PATIENTS WITH CHRONIC
IDIOPATHIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA

Hakan USLU¹, İlhami KİKİ², Ahmet ÖZBEK¹
Fuat ERDEM², Ahmet AYYILDIZ¹

ÖZET: Küçük çocuklarda daha sık görülen akut idiyopatik trombositopenik purpura (İTP) ile parvovirus B19 (PV-B19) arasındaki ilişkiyi gösteren çok sayıda çalışma olmasına rağmen, daha sinsi bir form olan ve erişkinlerde görülen kronik İTP ile ilgili yeterince veri bulunmamaktadır. Kronik İTP'lı erişkin hastalarda PV-B19 seroprevalansının araştırılmasını amaçlayan bu çalışmaya, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Araştırma Hastanesi Erişkin Hematoloji Kliniği'nde tanı konulmuş 61 olgu (38 kadın, 23 erkek; yaş ortalaması 34.4 ± 11.2 yıl) ile sağlıklı 60 kontrol (30 kadın, 30 erkek; yaş ortalaması 35.6 ± 9.6 yıl) birey dahil edilmiştir. Çalışmaya alınan tüm hastalarda PV-B19 dışındaki diğer olası etiyolojik ajanlar ve faktörler, klinik ve laboratuvar bulgularına dayanılarak elimine edilmiştir. PV-B19 antikorları ELISA yöntemi ile araştırılmış ve hastaların 45'inde (%73.7) IgG, ikisinde (%3.2) ise IgM seropozitifliği saptanmıştır. Bu oranlar kontrol grubunda sırasıyla %38.3 (23/60) ve %1.6 (1/60) olarak belirlenmiştir. PV-B19 IgM pozitif olan iki hasta ve bir kontrol, IgG yönünden negatif bulunmuştur. IgM pozitif olan üç örneğe gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) uygulanmış ve sadece hastalardan birinde PV-B19 DNA pozitif olarak tespit edilmiştir. PV-B19 IgG pozitifliği açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüş ($p < 0.01$), ancak olgu sayısının azlığı nedeniyle IgM pozitiflikleri yönünden istatistiksel karşılaştırma yapılamamıştır. Sonuç olarak, her ne kadar hasta grubunda anlamlı oranda yüksek IgG seropozitifliği saptanmış olsa da, bu veriler kronik İTP ve PV-B19 ile ilgili bir yorum yapmak için yeterli olmayıp ileri çalışmalara gereksinim olduğu açıktır.

Anahtar sözcükler: *Kronik idiyopatik trombositopenik purpura, parvovirus B19, seroprevelans.*

ABSTRACT: Although there are several studies indicating the relationship between parvovirus B19 (PV-B19) and acute idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) which is a form seen frequently in children, the data are not enough in terms of chronic ITP, which is a more insidious form frequently seen in adults. The aim of this study

¹ Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum. (uhakan@atauni.edu.tr)

² Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Anabilim Dalı, Erzurum.

was to investigate PV-B19 seroprevalence in adult chronic ITP cases diagnosed at the haematology clinics of Atatürk University Research Hospital in Erzurum (located in eastern Anatolia, Turkey). A total of 61 patients (38 female, 23 male; mean age: 34.4 ± 11.2 years) and 60 healthy control subjects (30 female, 30 male; mean age: 35.6 ± 9.6 years) were included to the study. All possible etiological agents and factors other than PV-B19 were eliminated on the basis of clinical and laboratory findings. PV-B19 antibodies were screened by ELISA method, and 73.7% (45/61) of the patients were found IgG, whereas 3.2% (2/61) were found IgM seropositive. In the control group, these rates were detected as 38.3% (23/60) and 1.6% (1/60), respectively. IgG antibodies were negative in the two patients and one control who were positive for IgM. The presence of PV-B19 DNA was investigated in all of the three IgM positive subjects, and was found positive in only one patient by real-time polymerase chain reaction (PCR). The difference between patient and control groups with regard to IgG seropositivity was found statistically significant ($p < 0.01$), however statistical evaluation could not be performed for IgM seropositivity because of the low number of cases. As a result although the rate of IgG positivity was found statistically higher in the ITP patients in our study, this data is inefficient for the evaluation of relationship between PV-B19 and chronic ITP, indicating the need for further studies.

Key words: Chronic idiopathic thrombocytopenic purpura, parvovirus B19, seroprevalence.

GİRİŞ

Yalnızca insan patojeni olarak bilinen parvovirus B19 (PV-B19) önceleri çocukluk çağı eritematöz hastalığı olan eritema infeksiyozumun (beşinci hastalık) etkeni olarak tanımlanmıştır. Bugün trombositopeni, eritrosit aplazisi, artropati, hidrops fetalis, fetal ölüm ve birçok kardiyak, nörolojik ve vasküler enfeksiyonlardan sorumlu tutulmaktadır^{1,2}. Solunum yolu ile bulaşan virus tüm dünyada ve okul çağı çocuklarda yaygındır. Olguların %10'u 5 yaşından küçük, %70'i 5-15 yaşları arasında ve %20'si 15 yaşından büyüktür². Virus kemik iliğinde eritrosit öncü hücrelerinin yüzeyindeki P antijenine bağlanarak özellikle pronormoblast ve normoblast gibi progenitor hücrelere güçlü sitotoksik etki ile ciddi aplastik anemilere ve trombositopenilere sebep olmaktadır³⁻⁵. PV-B19 enfeksiyonu ile ilişkili olduğu öne sürülen diğer hastalıklar arasında; çeşitli romatolojik hastalıklar, vaskülit sendromları, SLE, dermatomyozit, ve juvenil romatoid artrit, idiopatik trombositopenik purpura ve glomerulonefrit gibi immün mekanizmalarla gelişen klinik durumlar sayılabilir¹.

İdiopatik trombositopenik purpura (İTP)'nın akut formu en sık 2-6 yaş arasında gözlenir ve insidansı özellikle kış ve ilkbahar aylarında viral enfeksiyonlardan sonra artar⁶. Erişkinlerde daha sık görülen form olan kronik İTP ise sinsi seyirlidir ve özellikle 20-40 yaşlarındaki kadınlarda erkeklere göre 2-3 kat daha yüksek oranda ortaya çıkmaktadır. Otoimmün temelli olan bu hastalıkta, sıklıkla trombosit yüzeyindeki GPIIb/IIIa reseptörüne karşı otoantikör gelişimi söz konusudur. Kronik immün trombositopeni nedeni olabilecek hastalıklar arasında; SLE, hematolojik bozukluklar ve bazı virus enfeksiyonları (hepatit B ve C, sitomegalovirus, Epstein-Barr virus, HIV) yer almaktadır⁷.

Akut İTP'lı hastalarda, özellikle de çocuklarda PV-B19 enfeksiyonunun rolü ile ilgili yeterince bilgi olmakla birlikte^{1,3,8-15}, kronik İTP ile PV-19 arasındaki olası ilişkiyi destekleyen kanıtlar mevcut değildir. Bu çalışmada, kronik İTP tanısı almış erişkin hastalarda, tartışılan bir ajan olarak PV-B19 seroprevalansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışmaya, 1994-2002 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Araştırma Hastanesi Erişkin Hematoloji Kliniği'nde tanı konulmuş 61 kronik İTP hastası ile sağlıklı 60 kontrol birey dahil edildi. Hastaların 38'i kadın, 23'ü erkek (yaş ortalaması: 34.4 ± 11.2 yıl), kontrollerin 30'u kadın, 30'u erkek (yaş ortalaması: 35.6 ± 9.6 yıl) olup, yaş dağılımı yönünden gerek hasta ve kontroller arasında gerekse cinsiyetler arasında istatistiksel bir fark yoktu ($p > 0.05$).

Kronik İTP'lı hastaların ilk başvuruda trombosit sayısı otomatik kan sayım cihazıyla ortalama $33.8 \pm 10.2 \times 10^9/L$ olarak saptandı. Otomatik sistemlerde EDTA'ya bağlı psödotrombositopeni olasılığını ekarte etmek için trombosit sayısı düşük bulunan hastaların periferik kan yaymaları konvansiyonel yöntemle de incelendi. Periferik kan yaymasında atipik hücre varlığı ve trombositopeni nedeni olabilecek diğer hastalıklara ait bulguların varlığı araştırıldı. Hepatit A, B, C ve HIV taraması ile TORCH testleri yapılarak bu hastalıklara bağlı sekonder İTP varlığı ekarte edildi.

Olgulara batin ultrasonografisi uygulanarak paraaortik lenfadenopati ve splenomegali olup olmadığı belirlendi. Kanama zamanı ve pıhtı retraksiyonu testleri yapılarak eksik trombosit sayısına bağlı trombosit fonksiyon bozukluğu doğrulandı. Tüm hastalardan kemik iliği aspirasyonu yapılarak hücrelerin sayısal yeterliliği ve matürasyon durumu incelendi ve trombositopeni nedeni olabilecek hematolojik bozuklukların varlığı araştırıldı. Son bir ay içinde ilaç kullananlar, tanı konulmuş bakteriyel veya viral enfeksiyon geçirenler, eşlik eden otoimmün veya neoplastik hastalık, lenfadenopati, organomegali, anemi veya lökopeni gibi klinik veya laboratuvar anomalileri olanlar ve hayatının herhangi bir döneminde kan veya kan ürünü transfüzyonu yapılmış olanlar çalışma dışı bırakıldı.

Hastalardan tedavi öncesi alınan serum örnekleri çalışılınca kadar $-80^\circ C$ 'de saklandı. PV-B19 IgG ve IgM antikorları, IBL (Immuno-Biological Laboratories, Germany) kitleri ile tam otomatik mikroELISA cihazında (Labotech, Biochem) çalışıldı. IgM pozitif bulunan serumlarda viral DNA varlığı araştırıldı. Bu amaçla, viral DNA'nın ekstraksiyonu için spin kolon metodu (Qiagen QIAmp min Elute virus spin kit) ve amplifikasyon için PV-B19 NS-1 genindeki 177 baz çiftlik bölgeyi tanımlayan Fluorion PV-B19 ONS 1.0 kiti (Intek) kullanıldı ve "Lightcycler real-time PCR" (Biorad) uygulandı.

İstatistiksel analizler, SPSS 11.5 program paketinde yapıldı. Grup içi ve gruplar arası karşılaştırmalar "student t" testi ile, iki grup arasında PV-B19 IgG seropozitifliğinin karşılaştırılması "Pearson's ki kare" testi ile yapıldı.

BULGULAR

Çalışmamızda hastaların %73.7'sinde (45/61) PV-B19 IgG, %3.2'sinde ise (2/61) IgM antikorları pozitif olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise bu oranlar sırasıyla %38.3 (23/60) ve %1.6 (1/60)'dır. PV-B19 IgG pozitifliği açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu görülmüş ($p<0.01$), ancak olgu sayısının azlığı nedeniyle IgM pozitiflikleri yönünden istatistiksel karşılaştırma yapılmamıştır.

PV-B19 IgM pozitif olan iki hasta ve bir kontrolün serumlarında IgG antikorlarının negatif olduğu izlenmiş, IgM pozitifliği saptanan üç örneğe uygulanan PCR ile sadece hastalardan birinde PV-B19 DNA'sının varlığı tespit edilmiştir.

TARTIŞMA

Günümüzde çeşitli viral, bakteriyel ya da paraziter enfeksiyonlar ile otoimmün hastalıkların ilişkisini gösteren bilgiler mevcuttur¹⁶⁻¹⁸. Enfeksiyöz ajanlar ekzojen olarak, immün sistem hücrelerindeki bozukluklar ise endojen olarak, konağın kendi antijenlerine karşı yanıt oluşturmamasını kontrol eden mekanizmaları hasara uğratarak otoimmüniteye zemin hazırlayabilmektedir^{18,19}. Otoimmün temeli olan idiopatik trombositopenik purpura (İTP)'nin patogenezinde de bazı bakteriyel ve viral etkenler suçlanmaktadır²⁰⁻²⁴. Örneğin Kooter ve arkadaşları²⁰, iki erişkin olguda sırasıyla varicella zoster ve Epstein-Barr virus enfeksiyonlarından sonra ciddi akut İTP geliştiğini bildirmişlerdir. Tanır ve arkadaşları²¹ akut hepatit A enfeksiyonundan sonra, Nakajima ve arkadaşları²² ise hepatit C virus enfeksiyonlu hastalarda immün trombositopenik purpuranın ortaya çıktığını rapor etmişlerdir. Özkalemkaş ve arkadaşları²³ tüberküloz ile, Yalaz ve arkadaşları²⁴ da bruselloz ile trombositopenik purpura arasındaki ilişkiden bahsetmişlerdir.

İnsan parvovirus B19 (PV-B19) ile gerek çocuklarda gerekse erişkinlerde gözlenen akut İTP'nin ilişkisini gösteren çeşitli çalışmalar mevcuttur⁸⁻¹⁵. Ancak bu virusun kronik İTP olguları ile ilişkisine dair çalışmalar kısıtlıdır²⁵. Van Elsacker-Niele ve arkadaşlarının²⁵ erişkin yaş grubundaki 60 hastayı kapsayan çalışmalarında, PV-B19'un erişkin İTP'si için sık rastlanan bir etyolojik ajan olmayabileceğini ifade etmişlerdir.

Kronik İTP, genellikle erişkinlerde görülen, altı aydan uzun süre devam eden ve altta yatan nedenin belirlenemediği trombositopeni olarak tanımlanabilir. Erişkin yaş grubundaki İTP olgularında PV-B19 seroprevalansını araştırdığımız bu çalışmada, hasta grubunda saptanan IgG pozitiflik oranı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (sırasıyla; %73.7 ve %38.3, $p<0.01$). Bu durum, kronik İTP'nin akut bir enfeksiyondan ziyade önceden geçirilmiş bir PV-B19 enfeksiyonu tarafından tetiklenebileceği ve uzunca bir süre subklinik seyredebileceğini düşündürülebilir. Wehmeier ve arkadaşlarının¹⁵ akut enfeksiyonlu 17 erişkin hastada yaptıkları çalışmada, PV-B19 IgM pozitifliği %12, IgG pozitifliği ise %81 olarak bulunmuştur. Araştırmacılar, IgG seropozitifliğinin akut veya geçirilmiş enfeksiyon hakkında kesin bir fikir vermeyeceğini, ancak normal

popülasyona göre oldukça yüksek olan bu oranın da göz ardı edilemeyeceğini vurgulamaktadırlar¹⁵. Ülkemizde Aktepe ve arkadaşlarının¹³ yaptığı çalışmada, İTP'lı 19 pediatrik hastada PV-B19 IgM ve IgG seropozitifliği sırasıyla %57 ve %73 olarak tespit edilmiş, hastaların dokuzunda viral DNA varlığı saptanmıştır. Bizim erişkin hastalarımızdan elde ettiğimiz IgG pozitiflik oranı, bu orana paralel olmakla birlikte, oldukça düşük saptadığımız IgM pozitiflik oranının (%3.2), çalışılan hasta grupları arasındaki yaş farkından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Özellikle immün sistemi baskılanmış ve sık kan ve kan ürünü transfüzyonu gerektiren hastalarda PV-B19 enfeksiyonunun ciddi problemler oluşturabildiği bilinmektedir¹⁻³. Assy ve arkadaşları¹² karaciğer transplantasyonu yapılmış bir olguda PV-B19 enfeksiyonuna bağlı bir İTP olgusu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise kan ve kan ürünü transfüzyon hikâyesi olanlar çalışma dışında bırakılmıştır.

Sonuç olarak, elde edilen serolojik bulgularla PV-B19 enfeksiyonunu kronik İTP'nın patogenezi ile doğrudan ya da dolaylı olarak ilişkilendirmek mümkün olmadığı kadar doğru da değildir. Ancak erişkin İTP'lı olgulardan elde ettiğimiz bu verilerin, daha geniş ve kapsamlı çalışmalara kaynak teşkil edebileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Blacklow NR. Parvovirus, pp: 1054-6. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (eds), *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 2005, 16th ed. McGraw-Hill Co, New York.
2. Portmore AC. Parvoviruses (Erythema infectiosum, aplastic crisis), pp: 1439-46. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), *Principles and Practice of Infection Disease*. 1995, 4th ed. Churchill-Livingstone, Philadelphia.
3. Arıbaş ET, Altındış M. Parvovirus B19 enfeksiyonları. S.Ü Tıp Fak Derg 1996; 12: 257-61.
4. Wakamatsu C, Takakura F, Kojima E, et al. Screening blood donors of human parvovirus B19 and characterization of the results. Vox San 1999; 76:14-21.
5. Kok RH, Wolfhagen MJ, Klosters G. A syndrome resembling thrombotic thrombocytopenic purpura associated with human parvovirus B19 infection. Clin Infect Dis 2001; 32: 311-2.
6. Levine SP. Thrombocytopenia caused by immunologic platelet destruction, pp: 1533-54. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, et al (eds), *Wintrobe's Clinical Hematology*. 2003, 11th ed. Lippincott Williams & Wilkins Co, Philadelphia.
7. Handin RI. Disorders of the platelet and vessel wall, pp: 673-80. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (eds), *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 2005, 16th ed. McGraw-Hill Co, New York.
8. Murray JC, Kelley PK, Hogrefe WR, McClain KL. Childhood idiopathic thrombocytopenic purpura: association with human parvovirus B19 infection. Am J Pediatr Hematol Oncol 1994; 16: 314-9.
9. Heegaard ED, Rosthoj S, Petersen BL, Nielsen S, Karup Pedersen F, Hornsleth A. Role of parvovirus B19 infection in childhood idiopathic thrombocytopenic purpura. Acta Paediatr 1999; 88: 614-7.
10. Lefrere JJ, Courouce AM, Kaplan C. Parvovirus and idiopathic thrombocytopenic purpura. Lancet 1989; 1: 279.
11. Foreman NK, Oakhill A, Caul EO. Parvovirus-associated thrombocytopenic purpura. Lancet 1988; 2: 1426-7.

12. Assy N, Rosenthal E, Hazani A, Etzioni A, Baruch Y. Human parvovirus B19 infection associated with idiopathic thrombocytopenic purpura in a child following liver transplantation. *J Hepatol* 1997; 27: 934-6.
13. Aktepe OC, Yetgin S, Olcay L, Ozbek N. Human parvovirus B19 associated with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Pediatr Hematol Oncol* 2004; 21: 421-6.
14. Kido S, Ito Y, Nishimura N, Kajita Y, Ozaki T. Human parvovirus B19 associated thrombocytopenic purpura. *Acta Paediatr Jpn* 1998; 40: 486-8.
15. Wehmeier A, Eis-Hubinger AM, Maas Enriquez M, Beckmann H. Parvovirus B19 in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Vox Sang* 2000; 79:118.
16. Matthias GH, Robert SF, John LW. Microorganisms and autoimmunity: making the barren field fertile? *Nat Rev Microbiol* 2003; 1: 151-7.
17. Filippi C, von Herrath M. How viral infections affect the autoimmune process leading to type 1 diabetes. *Cell Immunol* 2005; 233: 125-32.
18. Lipsky PE, Diamond B. Autoimmunity and autoimmune diseases, pp: 1956-60. In: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL (eds), *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 2005, 16th ed. McGraw Hill Co, New York.
19. Gianani R, Sarvetnick N. Viruses, cytokines, antigens, and autoimmunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 2257-9.
20. Kooter AJ, Van der Linden PW, De Klerk C. Acute idiopathic thrombocytopenic purpura in adults following viral infection: report of two cases. *Neth J Med* 2002; 60: 174-6.
21. Tanir G, Aydemir C, Tuygun N, Kaya O, Yarali N. Immune thrombocytopenic purpura as sole manifestation in a case of acute hepatitis A. *Turk J Gastroenterol* 2005;16: 217-9.
22. Nakajima H, Takagi H, Yamazaki Y, et al. Immune thrombocytopenic purpura in patients with hepatitis C virus infection. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 1197-200.
23. Ozkalemkas F, Ali R, Ozkan A, et al. Tuberculosis presenting as immune thrombocytopenic purpura. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2004; 3: 16.
24. Yalaz M, Arslan MT, Kurugol Z. Thrombocytopenic purpura as only manifestation of brucellosis in a child. *Turk J Pediatr* 2004; 46: 265-7.
25. Van Elsacker-Niele AM, Weiland HT, Kroes AC, Kappers-Klunne MC. Parvovirus B19 infection and idiopathic thrombocytopenic purpura. *Ann Hematol* 1996; 72: 141-4.