

BELİRLENEBİLEN BİR İMMÜNYETMEZLİĞİ OLMAYAN YAŞLI BİR HASTADA GELİŞEN PROGRESİF MULTİFOKAL LÖKOENSEFALOPATİ

PROGRESSIVE MULTIFOCAL LEUKOENCEPHALOPATHY IN AN ELDERLY PATIENT WITH NO OBVIOUS IMMUNOSUPPRESSION

Ömer COŞKUN¹, Kenan ŞENER², Vedat TURHAN³, Önder ÖNGÜRÜ⁴, Hanefi Cem GÜL¹,
Can Polat EYİGÜN¹

¹ Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

² Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Viroloji Bilim Dalı, Ankara.

³ Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Servisi, İstanbul. (vedatturhan@yahoo.com)

⁴ Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Patoloji Anabilim Dalı, Ankara.

ÖZET

Bir insan polyomavirusu olan JC virus (JCV), santral sinir sisteminin ciddi seyirli demiyelinizan hastalığı olan progresif multifokal lökoensefalopati (PML)'den sorumludur. PML daha ziyade immün sistemi baskılanmış (AIDS'li, organ transplantasyonu yapılan ya da kanserli) hastalarda görülmektedir. Bu raporda, bilinen belirgin bir immünosüpresif durumu olmayan 75 yaşındaki bir hastada gelişen ve idrar örneklerinden moleküler metotlarla JCV DNA'sı saptanan bir PML olgusu sunulmaktadır. Baş ağrısı ve başında yanma şikayetleri ile hastaneye başvuran 75 yaşındaki bir kadın hastanın beyin omurilik sıvısı (BOS) incelemesinde lenfositik hücre artışı saptanmış ve beyin manyetik rezonans tetkikinde tüberküloz ile uyumlu lezyonların belirlenmesi üzerine hastaya antitüberküloz tedavi başlanmıştır. Hastalığın ilerleyici seyir göstermesi nedeniyle hastanın BOS ve serum örneklerinden yapılan bakteriyel, viral ve fungal etkenleri araştırmaya yönelik serolojik, moleküler ve mikrobiyolojik yöntemler ile biyokimyasal testlere rağmen beyindeki multifokal lezyonların etyolojisi saptanamamıştır. Hastadan alınan beyin biyopsi örneğinin patolojik ve immünohistokimyasal incelemesi, demiyelinizan hastalıkla uyumlu olarak rapor edilmiştir. Demiyelinizan hastalığın etyolojisini tespit etmeye yönelik olarak beyin dokusu, BOS, serum ve idrar örneklerinde gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile JCV DNA'sı araştırılmış ve idrarda JCV-DNA pozitifliği saptanmıştır. Hastanın taburcu edilmesinden sonra yapılan takiplerinde hastalığının ilerleyici özelliğinin devam ettiği görülmüştür. Sonuç olarak, beyin demiyelinizasyonu giden hastalık tablolarında organ transplantasyonu ve AIDS gibi belirgin bir immünosüpresyon yapacak sebep olmasa bile, diğer başlıca nedenler ekarte edildikten sonra JCV varlığı araştırılmalıdır. Zira özellikle ileri yaştaki hastalar, JCV'ye bağlı demiyelinizan beyin hastalıkları açısından risk altında olabilirler.

Anahtar sözcükler: JCV, progresif multifokal lökoensefalopati, demiyelinizan hastalık.

ABSTRACT

Progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) which is a severe demyelinating disease of the central nervous system (CNS), is caused by a human polyomavirus known as JC virus (JCV). PML is seen primarily in immunosuppressed (AIDS, organ transplant or malignancy) patients. In this report, a case of PML that developed in a 75-years-old female patient with no known immunosuppression was presented. The patient was admitted to the emergency department with complaints of headache and burning sensation in head. Cerebrospinal fluid (CSF) examination revealed increase in lymphocytic cells. Since lesions compatible with tuberculoma were detected in brain tissue by magnetic resonance imaging, anti-tuberculous therapy initiated empirically. The disease exhibited a progressive course and all the serological, molecular, microbiological and biochemical tests performed in blood and CSF failed to identify the causative agent. Pathological and immunohistochemical examination of the brain biopsy specimens demonstrated demyelinating disease. Brain biopsy, CSF, serum and urine specimens were investigated by real-time polymerase chain reaction specific for JCV and JCV-DNA was detected in the urine samples. Follow-up visits of the patient indicated a progressive course. In conclusion, after ruling out the other primary causes, JCV should be investigated in patients with demyelinating CNS disease even in the absence of significant immunosuppressive condition. Elderly patients should be considered in the risk group for demyelinating disease of CNS due to JCV.

Key words: JCV, progressive multifocal leukoencephalopathy, demyelinating disease.

GİRİŞ

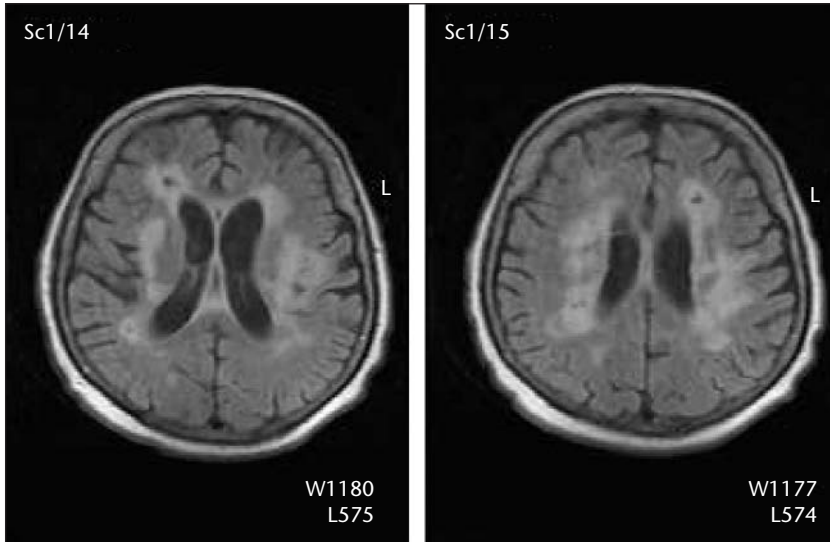
İnsan polyoma viruslarından biri olan JC virus (JCV), immünyetmezlikli kişilerde destrüktif bir ensefalit tablosu olan progresif multifokal lökoensefalopati (PML)'ye neden olabilmektedir. Polyoma virusları sıklıkla transplant alıcılarında diğer viral etkenlere göre daha uzun bir süre sonra reaktifte olmaktadır¹. Toplumun önemli bir kısmı JCV ile karşılaşmış olup, primer enfeksiyon genellikle çocukluk döneminde kazanılmaktadır. Bu dönemde enfeksiyon sıklıkla sessiz seyreder; nadiren de hafif solunum yolu hastalığı bulguları ile ortaya çıkabilir. Primer enfeksiyonda önce viremi ve ardından da virusun persistan olarak kalacağı böbreklere transportu gerçekleşir. İmmün sistemi zayıflatan durumlar, virusun reaktivasyonu ve virüri ile sonlanır¹⁻³.

Bu raporda, bilinen belirgin bir immünsüpresif durumu olmayan yaşlı bir kadın hastada gelişen ve idrar örneklerinden moleküler metotlarla JCV DNA'sı saptanan bir PML olgusu sunulmaktadır.

OLGU SUNUMU

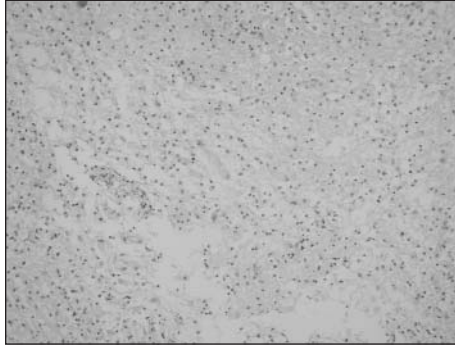
Yetmiş beş yaşında kadın hasta, 2008 yılı Temmuz ayında baş ağrısı ve başında yanma hissi şikayetleri ile hastaneye müracaat etti. Uygulanan vertebral arter renkli doppler, bilateral karotid arter renkli doppler ve kraniyal manyetik rezonans görüntüleme (MRG) incelemeleri normal olarak değerlendirildi. Birkaç gün sonra ateş, halsizlik ve iştahsızlık şikayetleri ile tekrar hastaneye müracaat eden hastaya depresyon tanısı ile tedavi başlandı. Yaklaşık bir hafta sonra bilinci kapanan hastaya lomber ponksiyon yapıldı ve beyin omurilik sıvısı (BOS)'nın incelemesinde basıncın arttığı, BOS'un berrak ve renksiz görünümde olduğu ve pandy reaksiyonunun negatif olduğu saptandı. Mikroskopik inceleme-

de beyaz küre sayısı $160/\text{mm}^3$ (%100 mononükleer lökosit); biyokimyasal incelemede ise protein 53 mg/dl, glukoz 80 mg/dl, eş zamanlı kan glukozu 159 mg/dl ve C-reaktif protein (CRP) düzeyi 97.9 mg/dl olarak belirlendi. Yapılan fizik muayenede bilinci kapalı, ense sertliği negatif, diğer bulguları normal olarak değerlendirildi. Difüzyon beyin MRG tetkikinde bilateral sentrum semiovalelerde, periventriküler beyaz cevher alanları içerisinde, sol temporal lob derin beyaz cevher alanında, sağ temporal lob anterior kesim subkortikal beyaz cevher alanı içerisinde çok sayıda, santral kesimlerinde artmış difüzyon gösteren periferik kalın halkasal tarzda difüzyon kısıtlaması gösteren lezyonlar gözlemlendi (Resim 1). Tüberküloz ile uyumlu lezyonların saptanmış olması nedeniyle hastaya antitüberküloz tedavi (izoniazid 1 x 300 mg, pirazinamid 4 x 500 mg, etambutol 3 x 500 mg, rifampisin 1 x 600 mg) başlandı. Primer odak açısından akciğerlerde tüberküloz ile uyumlu lezyon tespit edilemedi. Hastanın serum ve BOS örneklerinin laboratuvar incelemelerinde; primer viral hepatit ve insan immünyetmezlik virusu (HIV) testleri negatif; prokalsitonin, otoantikörler (ANA, anti-Sm-Ab, anti-dsDNA, anti-Jo-1, anti-SSA, anti-SSB), tiroid hormonları, tümör belirleyicileri (CEA, CA19.9, CA15.3, CA125), adenozin deaminaz, *Brucella*, kızamık, kızamıkçık, toksoplazma, toksokara, kist hidatik, herpes virus [herpes simpleks virus (HSV)-1, HSV-2, Epstein-Barr virus, sitomegalovirus] ve parvovirus B19 IgM/IgG testleri negatif/normal; serum IgG, IgA ve IgM düzeyleri ise normal olarak tespit edildi. Protein elektroforezi, alfa-2 bandındaki hafif yükseklik 14.4 (7-11) dışında normal olarak değerlendirildi. CRP, yapılan tüm ölçümlerinde yüksek olarak bulundu. BOS incelemeleri başından itibaren bütün örneklerde, pandy reaksiyonu negatif, renksiz, berrak, protein düzeyi normal olarak saptandı. Hücre sayımları, hepsi mononükleer hücre olmak üzere sırasıyla; $160/\text{mm}^3$, $125/\text{mm}^3$, $125/\text{mm}^3$ olarak tespit edildi.

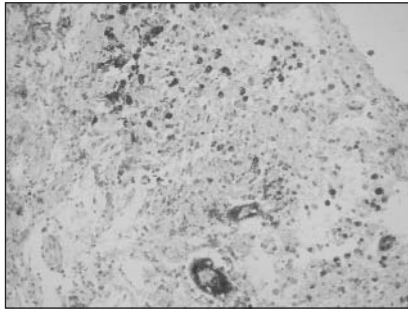


Resim 1. Beyin MRG tetkikinde farklı kesitlerde bilateral sentrum semiovalelerde, subkortikal beyaz cevher alanlarında yaygın, çok sayıda konfluent oluşturan nodüller.

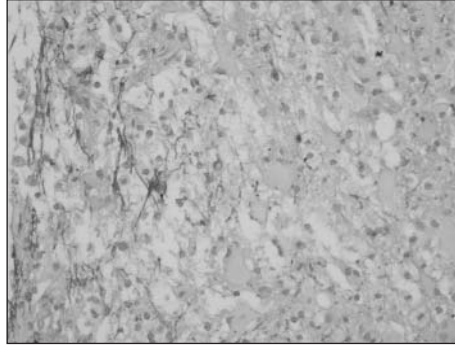
BOS'ta tüberküloz dahil yapılan bakteriyolojik kültürler negatif sonuç verdi. ARB boyamasında bakteri görülemedi. BOS'ta yapılan toksoplazma, HSV ve tüberküloz polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tetkikleri negatif olarak saptandı. BOS'un sitolojik incelemesinde malignite bulgularına rastlanmadı. Opaklı abdominopelvik bilgisayarlı tomografisinde sağ böbrek üst polde 13 mm'lik kortikal kist saptandı. Tekrarlanan MR spektroskopide neoplazma yönünden patolojik pik saptanmadı. Lezyonlar demiyelinizan bir hastalık yönünde yorumlandı. Hastaya tanı amaçlı beyin biyopsisi uygulandı. Histopatolojik incelemede parenkim, perivasküler inflamatuvar hücrelerin (lenfoid ve histiyosit) olduğu (Resim 2,3), glial dokuda belirgin vakuoler değişikliklerin mevcut olduğu, aksonların korunmuş olduğu, buna karşın granülom yapılarının görülmediği bildirildi (Resim 4). Morfolojik ve immünohistokimyasal incelemelerde demiyelinizan hastalık düşündüren bulgulara rastlandı. Granülom yapısı, neoplazma veya enfeksiyonu düşündürecek bulgulara rastlanmadı. Beyin dokusunun aerop ve anaerop kültürlerinde ve *Borrelia burgdorferi* PCR tetkikinde pozitif sonuç elde edilemedi. Otoantikör testleri negatif olarak değerlendirildi. Hastanın 4 ay sonra yapılan beyin MRG tetkikinde serebellar sulkuslarda hafif belirginleşme ile karakterize atrofik değişiklikler, bir önceki MRG ile karşılaştırıldığında lezyonların yaygınlaşarak birleşme eğilimi gösterdiği ve kronikleşme eğiliminde



Resim 2. Beyin parankimi içinde yoğun makrofaj infiltrasyonu (hematoksilen-eozin x100).



Resim 3. Beyin parankimi içindeki makrofajlar immünohistokimyasal olarak CD-68 ile işaretlenme göstermektedir (immünohistokimya x200).



Resim 4. İmmünohistokimyasal incelemede nörofilaman ile korunmuş akson yapıları izlenmektedir (immünohistokimya x200).

olduğu belirtildi. Beyin dokusu, BOS, serum ve idrarda demiyelinizan hastalığın etiyo-lojisini araştırmak amacıyla yapılan JCV PCR araştırması sonucunda, idrarda JCV-DNA pozitifliği saptandı. Test tekrarlanarak doğrulandı. Hastanın taburcu edildikten sonra yapılan takiplerinde genel durumunun düzelmediği, hastalığın ilerleyici karakterinin devam ettiği gözlemlendi.

JCV PCR Yöntemi

Örneklerden DNA izolasyonu alkali fenol-kloroform-izoamil alkol yöntemine göre yapıldı⁴. Çalışmada kullanılan tüm primerlerin ve probun dizaynı OligoYap 4.0 isimli bilgisayar yazılımı yardımıyla yapıldı⁵. Tüm oligolar MWG-Biotech (Almanya) firmasına sentezletirildi (Tablo I). TaqMan temelli gerçek zamanlı PCR işlemi için önce 0.2 ml'lik optik tüpler içine her bir örnek için son hacmi 20 µl olacak şekilde PCR karışımı hazırlandı ve bu karışıma 5 µl DNA çözeltisi konuldu. Hazırlanan karışımlar gerçek zamanlı PCR cihazına yerleştirildi. PCR döngüleri Kubar ve arkadaşlarının⁶ çalışmasına göre 95°C'de 10 dakika [Hot Start Taq DNA polimeraz (AmpliTaq Gold-DNA polymerase, Applied Biosystems, Foster City, CA, ABD) aktivasyonu için] ve 40 siklus 95°C'de 15 saniye - 60°C'de 1 dakika olacak şekilde uygulandı. Amplifikasyon, verilerin elde edilmesi ve tüm analizler ABI PRISM 7700 Sequence Detector (Applied Biosystems, Foster City, CA, ABD) cihazı ile yapıldı.

Tablo I. JCV Primerleri ve Prob

Adı	Primerler* ve prob** (5' → 3')	Amplikon uzunluğu
JCV P1	CATTTTTCATGGCAAAACAGGTYYT	97 baz çifti
JCV Prob	FAM ACTTCTCATTAATGTATTCCACCAGGAT BHQ-1	
JCV P2	TTTG TAGGTGCCAACCTATGGAA	

* Y= C/T (dejeneratif baz).
 ** FAM ve BHQ-1 proba ait floresan işaretlerdir.
 JCV: JC virus.

TARTIŞMA

PML insan polyomavirüs ailesinden JCV'nin neden olduğu beynin demiyelinizan bir hastalığıdır. JCV miyelin oluşturan oligodendrositlerin litik enfeksiyonuna neden olmaktadır³. PML hastalarında belirgin nörolojik bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Haftalar veya aylar içerisinde subakut olarak çeşitli motor, duyuşsal, görsel veya kognitif bulgularla karşılaşılabilir. PML tanısını kesinleştirebilmek için beyin biyopsisi şarttır. Bununla birlikte beyin MRC'de karakteristik beyaz cevher değişikliklerinin görülmesi ya da BOS'ta JCV DNA'sının gösterilmesi de PML tanısı için büyük önem taşımaktadır^{2,3}. Hastamızın BOS bulguları özgül olmayan bir viral santral sinir sistemi enfeksiyonunu düşündürmekle birlikte, beyin biyopsisi de dahil oldukça kapsamlı tetkik ve araştırmalar PML'yi düşündürmüştür. Beyin dokusu ve BOS'ta JCV DNA'sı saptanamamış ancak idrarda JCV PCR pozitif olarak saptanmıştır.

JCV oldukça yaygın olup toplumun önemli bir kısmını enfekte etmiş durumdadır. Çocukluk döneminde kazanılan primer enfeksiyondan sonra virus böbreklerde latent olarak kalmaktadır. İmmün sistemin baskılanmasına ya da zayıflamasına yol açan faktörler, virüsün reaktivasyonuna ve virüsün gelişmesine yol açar. Polyomavirus kaynaklı virüsler en sık olarak renal allograft alıcılarında, kemik iliği transplant alıcılarında ve hamile kadınlarda görülmektedir^{7,8}.

Dünyada AIDS epidemisinin başlamasıyla birlikte PML ile giderek daha fazla karşılaşılmaktadır⁹. Türkiye'de muhtemelen HIV enfeksiyonunun epidemik olmaması ve transplantasyon operasyonlarının çok yaygın olmaması nedeniyle bildirilen PML olgu sayısı da -erişilebildiği kadarıyla- son derece azdır^{10,11}. Bunlardan biri, Demir ve arkadaşları¹⁰ tarafından rapor edilen 6 yaşında akut lenfoblastik lösemili bir olgu, diğeri ise Gedizlioğlu ve arkadaşları¹¹ tarafından bildirilen yüksek doz steroid tedavisi alan miyastenik erişkin bir hastadır. Bizim hastamızda ise, bu olgulardan farklı olarak belirgin bir immünyetmezlik sendromu tespit edilememiş, ancak ileri yaşın immün sistemi zayıflatıcı bir etkisi olabileceği düşünülmüştür. Sonuç olarak, beynin demiyelinizasyonu ile giden hastalık tablolarında organ transplantasyonu, malignite ve HIV pozitifliği gibi belirgin bir immünsüpresyon nedeni olmasa bile, diğer olası etiyolojiler ekarte edildikten sonra JCV varlığı araştırılmalıdır. İleri yaştaki hastalar JCV'ye bağlı demiyelinizan beyin hastalıkları açısından risk altında olabilirler.

KAYNAKLAR

1. Winn WC Jr, Allen SD, Janda WM, Koneman EW (eds). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 2006, Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore.
2. Major EO, Amemiya K, Tornatore CS, Houff SA, Berger JR. Pathogenesis and molecular biology of progressive multifocal leukoencephalopathy, the JC virus-induced demyelinating disease of the human brain. Clin Microbiol Rev 1992; 5: 49-73.
3. Dummer JS. Infections in solid organ transplant recipients, pp: 3501-12. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 2005, 6th ed. Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia.

4. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Appendices B16. Molecular Cloning, 1998, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
5. Yapar M, Aydoğan H, Pahsa A, et al. Rapid and quantitative detection of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus by one-step real-time reverse transcriptase-PCR. Japanese J Infect Dis 2005; 58: 358-62.
6. Kubar A, Saygun I, Yapar M, Ozdemir A, Slots J. Real-time PCR quantification of cytomegalovirus in aggressive periodontitis lesions using TaqMan technology. J Periodontal Res 2004; 39: 81-6.
7. Arthur RR, Dagostin S, Shah KV. Detection of BK virus and JC virus in urine and brain tissue by the polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1989; 27: 1174-9.
8. Yogo Y, Kitamura T, Sugimoto C, et al. Isolation of a possible archetypal JC virus DNA sequence from non-immunocompromised individuals. J Virol 1990; 64: 3139-43.
9. Holman RC, Janssen RS, Buehler JW, Zelasky MT, Hooper WC. Epidemiology of progressive multifocal leukoencephalopathy in the United States: analysis of national mortality and AIDS surveillance data. Neurology 1991; 41: 1733-6.
10. Demir E, Liebert UG, Soylemezoglu F, Yalaz K, Kose G, Anlar B. Childhood case of progressive multifocal leukoencephalopathy with improved clinical outcome. J Child Neurol 2005; 20: 241-4.
11. Gedizlioglu M, Coban P, Ce P, Sivasli IE. An unusual complication of immunosuppression in myasthenia gravis: progressive multifocal leukoencephalopathy. Neuromuscul Disord 2009; 19: 155-7.