

283942

T. C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
TİP BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DEJENERATİF ve DEMİYELİNİZAN  
HASTALIKLARDA VİRAL ANTİKORLAR ÜZERİNE  
BİR ARAŞTIRMA**

MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI  
DOKTORA TEZİ

**CEYLA İRKEÇ**

ANKARA, 1984

T. C.  
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DEJENERATİF ve DEMİYELİNİZAN  
HASTALIKLARDA VİRAL ANTİKORLAR ÜZERİNE  
BİR ARAŞTIRMA**

MİKROBİYOLOJİ PROGRAMI  
DOKTORA TEZİ

**CEYLA İRKEÇ**

REHBER ÖĞRETİM ÜYESİ : Doç. Dr. Şemseddin USTAÇELEBİ

ANKARA, 1984

## İÇİNDEKİLER

GİRİŞ .....	2
GENEL BİLGİLER .....	4
GEREÇ VE YÖNTEM .....	22
BULGULAR .....	34
TARTIŞMA .....	46
ÖZET .....	52
KAYNAKLAR .....	53

## GİRİŞ

Santral sinir sisteminin yavaş virus enfeksiyonları son yıllarda önemi artan ve etyolojisi bilinmeyen, etkin bir tedavi şekli bulunmayan bazı dejeneratif ve demiyelinizan hastalıkları içine almaktadır. Bu gruba giren Creutzfeldt - Jakob (CJ), kuru, subakut sklerozan panensefalit (SSPE), progressif multifokal lökoansefalopati (PML), progressif rubella panensefaliti (PRP), Parkinson hastalığı (PH), multipl skleroz (MS) ve amiotrofik lateral skleroz (ALS) gibi hastalıklarda, konvansiyonel veya konvansiyonel olmayan virusların etken olduğu yavaş virus hastalıklarının etyopatogenetik rolü gösterilmiştir (1-5).

Dejeneratif ve demiyelinizan hastalıklarda yapılan virolojik ve immünolojik çalışmalar paramiksoviruslar, Herpes, papova ve enteroviruslar üzerinde yoğunlaşmaktadır (6-15). Serolojik çalışmaların yanısıra yapılan virus izolasyon çalışmaları kısıtlı bir hastalık grubunda ve ancak tripsinize beyin hücrelerinin endikatör hücrelerle birarada kültüre edilmesi veya daha karmaşık hücre füzyon teknikleri ile gerçekleştirilebilmiştir (2,14,16-18). Bunun nedeni virusun konakçı hücre ile

moleküler düzeyde çok sıkı bir genetik ilişki kurması, ve mutasyona uğramasından kaynaklanabilir (19).

Çalışmamızda Parkinson hastalığı, multipl skleroz, subakut sklerozan panensefalit ve amyotrofik lateral skleroz tanılarıyla, Hacettepe ve Gazi Tıp Fakültesi Nöroloji Kliniklerinde takip edilen toplam 113 hasta ve 50 kontrol olgusunda viral antikörlerin sıklığı ve etyopatogenezdeki rollerini araştırmak amacıyla alınan serum ve beyin omurilik sıvılarında Herpes simplex tip I (HSV tip I), kızamık, parainfluenza tip I (PI tip I) viruslarına karşı antikörler ve daha önce literatürde kaydedilmemiş olan heterofil antikörlerin varlığı araştırılmıştır.

## GENEL BİLGİLER

Santral sinir sisteminin yavaş virus enfeksiyonları, kuluçka süreleri yıllarca süren, seyri önceden tahmin edilebilen ve uzun süre devam ettikten sonra ölümle sonuçlanan, doğal konakçı dışında da ortaya çıkabilen, konvansiyonel veya konvansiyonel olmayan viruslar tarafından oluşturulan bir hastalıklar grubudur (1,19). Bu virusların hepsi de gerek hayvanlarda gerekse insanlarda doğal olarak gelişen hastalıklar ile ilişkili bulunmuşlardır.

Konvansiyonel olmayan ajanlar olağandışı bazı biyolojik ve fizikokimyasal özellikler göstermekte ve bu bakımdan bilinen hiçbir enfeksiyon etkenine uymamaktadırlar. Konvansiyonel olmayan virusların görülememiş ve izole edilememiş olmalarına karşın, konvansiyonel viruslar hastalıklı beyin dokusundan izole edilebilmiş ve tipik yapısal, fizikokimyasal ve biyolojik özellikleriyle klasik virüslere benzedikleri saptanmıştır (19).

Yavaş virus enfeksiyonları başlıca 3 grupta incelenmektedir (2):

1. A Grubu: Bu grupta C tipi RNA virüsleriyle ilgili olan etkenlerin neden olduğu Visna ve Maedi hastalıkları

yer almaktadır. Visna sinsi başlayan ve özellikle arka bacakların felciyle karakterize bir koyun hastalığıdır. Visna virusu retroviruslar grubunda yer almaktadır. Büyüklüğü, morfolojisi ve fizikokimyasal özellikleri oncornaviruslara benzemektedir. Visnallı hayvanlarda nötralizan antikor titreleri yüksek bulunmaktadır (1). Maedi koyunlarda fatal seyreden ilerleyici pnömoni ve santral sinir sistemi lezyonları ile karakterize bir hastalıktır.

2. B Grubu: Bu grupta progressif ve fatal seyirli 4 nadir subakut spongiform ensefalopati şekli yer almaktadır :

1. Scrapie : Keçi ve koyunlarda görülen yorulma, yememe, kilo kaybı, huzursuzluk ve yürüme anormallikleri ile giden bir yavaş virus hastalığıdır. Scrapie virusu, diğer virusları inaktive eden ısı, formalin, eter, kloroform, UV ışınları gibi olağan ajanlara karşı dirençlidir. Virusa karşı sıvısal ve hücre sel bağışıklık gösterilememiştir.

2. Vizonların bulaşıcı ensefalopatisi : Klinik ve santral sinir sistemindeki patolojik özellikleri scrapie'ye benzeyen bir hastalıktır. Ajan patojen, scrapie gibi fiziksel ve kimyasal ajanlara dirençlidir ve antikor yapımına neden olmaz.

3. Kuru : Yeni Gine'de yaşayan Fore kabilesi bireylerinde görülen, serebellar ataksi, tremor ve konuşma bozuklukları ile karakterize bir hastalıktır. Santral sinir sisteminde scrapie'ye benzer lezyonlar meydana gelir.

Kuru viroidi olarak tarif edilen etken hasta beyinlerinden diğerk kişilere nakledilebilmektedir (1).

4. Creutzfeldt - Jakob Hastalığı : Organik demans, halusinasyonlar, serebellar ataksi, myoklonus ve rijidite ile giden ve ölümlle sonuçlanan bir yavaş virus enfeksiyonudur. Bu hastalığın insandan insana doku transplantasyonu ile nakledilebileceği bir keratoplasti olgusunda dikkati çekmiştir (2). Creutzfeldt - Jakob hastalığını son yıllarda şempanzelere nakletmek mümkün olmuştur. Hastalığın ayrıca kedi ve kobaylara da nakledilebileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (20).

3. C Grubu : Bu grupta normalde akut enfeksiyonlara neden olan, ancak burada olağandışı bir davranış gösteren etkenler yer almaktadır. Bunlar arasında kızamık, kızamıkçık, herpes ve influenza gibi virüslara bağılı olarak gelişen ve santral sinir sisteminde dejenerasyon ve demyelinizasyon yapan hastalıklar sayılabilir.

Bu grup hastalıkların etyopatogenezinde rol alan virüslar arasında paramiksovirus, ortomiksovirus, herpesvirus, papova, entero ve Toga virus grupları en fazla ilgi çeken etkenlerdir.

PARAMİKSOVİRUS GRUBU : Bu grupta kızamık, parainfluenza, kabakulak, solunum sinsityal virüsü ve Newcastle hastalığı virüsları yer almaktadır.

Kızamık virüsü 140 nm büyüklüğünde, sarmal yapıda tek iplikli RNA (-), zarflı, fiziksel ve kimyasal etkenlerle inaktive olabilen bir virüstur (5). İnsan, maymun

ve köpek böbreği hücrelerinde ve devam ettirilen insan hücresi doku kültürlerinde üretilir. İnsan ve maymunlarda hastalık yapabilir. Kızamık antijeni enfekte hücreler içinde floresan antikor tekniği ile gösterilebilir. Antijenler, kompleman birleşmesi deneyi ile varlıkları gösterilmeden çok önce, doku kültürü hücreleri içinde belirirler. Kızamık virusu sadece maymun alyuvarlarını aglutine eder. Virus, döküntüler çıktıktan 24 saat sonra ya da çıkmadan 1-4 gün önce, kan veya nazofarinks salgıları doku kültürlerine ekilerek izole edilebilir. İnsan amnion ve böbrek hücre kültürleri virus izolasyonu için uygundur. Serolojik yöntemlerden kompleman birleşmesi (KB) ve hemaglutinasyon önlenim (HÖ) deneyi kullanılır. Antikorlar akut hastalıktan yıllarca sonra yavaş yavaş azalır (5), fakat SSPE, MS gibi bazı hastalıklarda bu antikorların normal kişilere göre arttığı gösterilmiştir (21-23). Yine bu hastalarda beyin dokusundan kızamık virusuna benzer etkenler izole edilmiştir (24-27).

Parainfluenza viruslarının 4 tipi mevcuttur. Büyük- lük itibariyle miksoviruslara benzerler. Etere duyarlıdır. Memelilerin ve kuşların alyuvarlarını aglutine ederler ; influenza virusları gibi reseptör tahrip eden enzimleri vardır. İnsan ve maymun primer doku kültürlerinde iyi ürerler, ancak döletli yumurtalarda üremezler. Ortak bir antijene sahip oldukları kabakulak virusları gibi, influenza viruslarından biraz daha büyüktürler (90-200 nm) ve aglutine ettikleri alyuvarları

eritme eğilimleri vardır. Laboratuvar tanıları hemaglutinasyon önlenim, kompleman birleşmesi ve nötralizasyon testleri ile yapılır. Parainfluenza tip I virusuna, Sendai virusu, influenza D veya Japon hemaglutinasyon yapan virusu (HVJ) da denmektedir. Hemadsorpsiyon virusu tip 2 (HA-2) de bu gruptan olan virustur. PI tip I'in domuzlarda pnömoni ve yeni doğan çocuklarda da pnömonitis yaptığı bildirilmiştir. HA-2 virusu yetişkinlerde soğuk algınlığı, çocuklarda ise farenjit, bronşit, bronşiolit ve pnömoni meydana getirmektedir. Antikor oluşması görülmekle birlikte bunlar yeni enfeksiyonları önleyemezler (5). Akut multipl sklerozlu bazı hastalarda otopsi materyalinden erken steril biyopsi ve füzyon teknikleriyle parainfluenzaya benzeyen etken kültüre edilebilmiştir (28).

Bu gruptaki diğer viruslar içinde kabakulak virusuna karşı MS ve ALSda antikor aranmış, fakat yükselme gösterilememiştir (15,29).

**HERPESVİRUS GRUBU :** Bu grupta Herpes simpleks virusu tip 1 ve tip 2, Epstein-Barr (EB), sitomegalovirus ve varicella-zoster virusları yer almaktadır.

Herpes simpleks virusu, 100-120 nm büyüklükte, ikozahedral yapıda, zarflı, çift iplikli bir DNA virusudur. Eter, formaldehid ve nötral kırmızısı gibi fotodinamik olarak aktif boyalarla inaktive olurlar. Tavşan, kobay, fare, hamster ve siçanlarla döletli yumurtanın koriyoallantoisinde ürer. Virusun gelişmesiyle birlikte

birçok presipitasyon antijeni yapılıdır. Aynı zamanda, küçük çözünebilir kompleman bağlayan antijenler de yapılıdır. HSV tip 1 ve 2 antijenik olarak birbirine benzer. Tip 2 virüsleri tip 1 virüslerine göre ısıya daha duyarlı, ilaçlara daha dirençlidirler (5).

HSV tip 1, keratokonjunktivit, meningoensefalit, herpes labialis, ekzema herpetikum gibi klinik görünüm-ler meydana getirir. Tip 2 ise genital herpes ve neonatal herpesse neden olur. Tip 1 trigeminal ve otonomik, tip 2 ise sakral ganglionlarda latent kalabilir.

Virus herpetik lezyonlar gösteren dokulardan izole edilebilir, boğaz salgısında, tükürük ve dışkıda da bulunabilir. Herpes virusu bazı sağlıklı kimselerden de izole edilebildiği için, hastalık esnasında bu virusun izole edilmesi, bunun kesin etyolojik etken olduğunu göstermez. Virus izolasyonu için doku kültürüne, döletli yumurtaların koriyoallantoisine ve tavşan korneasına ekim yapılabilir. Doku kültürlerinde tipik çekirdek içi inklüzyon cisimcikleri, koriyoallantoik zarda lekeler ve tavşan korneasında opaklık görülmesi etken olarak herpes virusunu düşündürür. Virusun kesin olarak tanımlanması histolojik örneklerde çekirdek-içi inklüzyon cisimciklerinin gösterilmesine ve virusun özgül herpes antiserumu ile nötrlenmesine dayanır. Serolojik olarak nötralizasyon deneyleri ve kompleman birleşmesi deneyi kullanılabilir. İlk enfeksiyonun 4.-5. gününde nötralizan ve komplemanı birleştiren antikolar belirir ve enfeksiyonun 2.-3. haftasında en yüksek seviyeye ulaşırlar.

Bu antikorlar sık sık tekrarlayan enfeksiyonlar sonucu hayat boyu devam edebilirler. Tanı için çift serumda antikorların titresinde 4 kat artış gösterilmesi gerekir (5).

Kompleman birleşmesi deneyi ile yapılan çalışmalarda Parkinsonlu hastalarda Herpes simpleks tip 1 virusuna karşı antikorların arttığı saptanmıştır (12). 1964 yılında, multipl sklerozlu bir hastanın ortabeyninden herpes virusa benzer bir etken izole edilmiştir (30). Herpes tip 1 ve tip 2 arasındaki farklar daha iyi gösterildiğinde, bu izole edilen virusun HSV tip 2'ye uyduğu bildirilmiştir (31). Bu konudaki diğer çalışmalar çelişkili sonuçlar vermiştir (29,32,33).

Epstein-Barr (EB), sitomegalovirus, varicella-zoster'e karşı antikorlar immunofloresan antikör tekniği ile MSlu hastalarda araştırılmış ve EB antikorları diğerlerine nazaran daha yüksek bulunmuştur (29).

**HETEROFİL ANTİKORLAR :** Heterofil antikör bir konakta kendi türüne ait olmayan antijenlere karşı oluşan antikörler olarak tarif edilmektedir. Özellikle enfeksiyöz mononukleosis sırasında hastada koyun eritrositlerine karşı aglutininler gelişmekte ve bu antikörlerin saptanması tanıya yardımcı olmaktadır. EB virusunun etyolojide rol oynadığı bu hastalıkta heterofil antikörlerin oluşma nedeni henüz açıklığa kavuşmamakla beraber, viral enfeksiyon sonucu konakta gizli bulunan bazı antijenlerin açığa çıkabileceği göz önünde tutulmalıdır.

Paul-Bunnell testi olarak bilinen heterofil aglutinasyon testinde 1/160 üzerindeki titreler pozitif olarak kabul edilmektedir (5).

### C GRUBU YAVAŞ VİRUS HASTALIKLARININ ÖZELLİKLERİ

Bu grupta subakut sklerozan panensefalit (SSPE), progressif multifokal lökoensefalopati (PML), progressif rubella panensefaliti (PRP), multipl skleroz (MS), Parkinson hastalığı (PH) ve amyotrofik lateral skleroz (ALS) yer almaktadır.

SUBAKUT SKLEROZAN PANENSEFALİT (SSPE) : SSPE esas olarak çocuklarda ve adolesanlarda, seyrek olarak da erişkinlerde görülen nadir, yavaş ilerleyen bir santral sinir sistemi hastalığıdır (16). Olguların anamnezinde 2 yaşından önce geçirilmiş akut kızamık enfeksiyonuna sık rastlanmaktadır. Akut enfeksiyondan ortalama 5-6 yıl sonra hastalık başlamaktadır.

SSPE'de önce davranış değişiklikleri, daha sonra motor fonksiyon bozuklukları, myoklonik kasılmalar, konvulsiyonlar ve demans görülür. Daha ileri devrelerde de kortikasyon belirtileri ile birlikte yaygın bir serebral dejenerasyon ortaya çıkar. Bazı hastalarda remisyon bildirilmişse de, genel olarak SSPE birkaç ay veya yılda hastaların ölümüne neden olmaktadır (2,19).

Klinik özelliklerinin yanı sıra SSPE'li olgularda tipik laboratuvar bulguları dikkati çekmektedir. Hastaların beyin omurilik sıvılarında (BOS) yüksek miktarda

IgG, serum ve BOS spesmenlerinde çok yüksek titrelerde kızamık virusu antikorları bulunmaktadır. Kızamık için özgün antikorlar serum toplam IgG miktarının % 10-20'sini, BOS antikorlarının ise % 75'ini oluşturmaktadır (6). Kızamık antikorlarının serum / BOS oranındaki sabit azalma ve BOS'da büyük bir kısmı kızamık virusu için özgün oligoklonal IgG'nin bulunuşu virus antikorlarının sentral sinir sisteminde lokal olarak yapıldığını göstermektedir (34).

SSPE'de, histopatolojik olarak oligodendroglia hücrelerinde kızamık virusu nükleokapsidini içeren inklüzyon cisimlerine daha fazla rastlanmakta, bunun yanısıra pek çok nöron, BOS'daki mononükleer hücreler, lenf düğümleri, dalak, karaciğer ve böbrek glomerüllerinde de tesadüf edilmektedir (35,36).

Hastalığın etyolojisi ile ilgili olarak çok sayıda çalışma yapılmıştır. Viral etyolojiyi destekleyen kanıtlar ancak 1965 yıllarından sonra SSPE'li hastaların beyinlerinde paramiksovirus nükleokapsidlerini andıran tubuler yapıların gözlenmesiyle ortaya konmuştur (19,37). Daha sonraları paramiksovirusun kızamıktan sorumlu olduğu bulunmuş ve SSPE'li hastaların serum ve BOS'larında yüksek titrelerde kızamık antikorları saptanmıştır. İmmunofloresan tekniği kullanan çalışmalarda nöron ve glia hücrelerinde kızamık virusu antiijenleri gösterilmiştir (19). SSPE'de virus izolasyonunun kolay olacağı düşünülmüş, ancak pratik uygulamalarda durumun böyle olmadığı dikkati çekmiştir. Şu halde virusun maskelenmiş

veya defektli olması mümkündür. Çeşitli teknikler uygulanarak SSPE'li hastaların beyin materyalinden virus izole edilebilmektedir (16).

SSPE ile kızamık virusu arasındaki yakın ilişki iyi bilinmektedir. SSPE nukleokapsidleri fizik özellikleri bakımından kızamığa benzemektedir, ancak baz sıralarında bazı farklılıklar bulunmuştur. SSPE ile enfekte hücrelerle, kızamıkla enfekte hücrelerin RNA'sı arasında %60 homoloji bulunmuştur. Kızamık virusunun bütün genetik bilgisi SSPE viruslarında görülmekte, ancak SSPE genomunda ek olarak % 10 fazla bilgi bulunmaktadır. Böylece SSPE virusunun gerçekte kızamık virusu ile yakından ilgili, ancak aynı olmadığı anlaşılmaktadır (38).

SSPE virusunun ve kızamık virusunun M proteinlerinin farklı oluşu, virus-konakçı ilişkilerini açıklamak için ayrı bir hipotezin geliştirilmesine neden olmuştur. Bu görüşe göre SSPE viruslarının kızamık virusunun vahşi tiplerinden bir mutasyon sonucu gelişmesi mümkündür. Bu mutasyon M-proteininin yapımından sorumlu olan gen bölgesinde yer almakta ve fonksiyon yapamayan bir M-proteini ortaya çıkarmaktadır. Böylece virusun salınmadığı, üretken olmayan bir enfeksiyon meydana gelmektedir. Açıklanan bu teori virusun neden beyin dokusunda tomurcuklanma göstermediğini ve hücrelerde yüksek miktarlarda virus antijenleri bulunmasına rağmen, virus izolasyonunda niçin % 80 oranında başarısızlık olduğunu açıklamaktadır (19).

SSPE'in patogenezi daha kolay açıklayabilmek için hastaların sıvısal ve hücre sel bağışıklıkları ince-

lenmiş, ancak belirgin bir bozukluk saptanmamıştır (19).

SSPE'de hayvan modelleri de geliştirilmiştir. Erişkin hamsterlerde SSPE virusunun inokulasyonu geçici, asemptomatik bir ensefalite neden olmaktadır. Sütten yeni kesilmiş yavru hamsterlerde ise kronik bir enfeksiyon ortaya çıkmakta ve yaşayan hayvanlarda SSPE'e benzeyen bir patoloji gelişmektedir (2).

Akut kızamık enfeksiyonu geçiren hastaların bir kısmında neden SSPE geliştiği kesin olarak aydınlatılamamıştır. Genel olarak viruslar akut enfeksiyona yol açarlar. Bu enfeksiyonlar konakçının sekelli veya sekelsiz iyileşmesi, ya da ölümüyle sonuçlanmaktadır. Daha az olarak da akut enfeksiyon yapan viruslar bazı kişilerde yavaş virus enfeksiyonuna yol açmaktadırlar. Bu tip enfeksiyonların gelişmesinde kişisel immün cevabın etkisinin olabileceği düşünülmektedir. Bu görüşe göre, virus girdiği hücrenin yüzeyini değiştirerek konakçı tarafından yabancı hücre olarak tanınmasına ve immün cevabın başlamasına neden olmaktadır. Böylece virusla enfekte hücreler erimekte ve açığa çıkan virus antijenleri antikor yapımını uyarmaktadırlar. Meydana gelen immün kompleksler dolaşıma geçerek santral sinir sisteminde zedelenmelere yol açmaktadırlar (16).

**PROGRESSİF RUBELLA PANENSEFALİTİ (PRP) :** PRP konjenital kızamıkçık veya postnatal rubella enfeksiyonuna geç bir tepki olarak gelişmektedir. Klinik olarak konvulsiyonlar, myoklonus, serebellar ataksi, piramidal belir-

tiler, entellektüel bozukluklar görülmektedir. Laboratuvar araştırmalarında serum ve BOS'da rubella antikorları yüksek bulunmakta ve BOS'da rubellaya özgün antikorları da kapsayan oligoklonal IgG saptanmaktadır (10,39).

#### PROGRESSİF MULTİFOKAL LÖKOENSEFALOPATİ (PML) :

PML, immün sistemlerinde bozukluğu olan kişilerde santral sinir sistemini ilgilendiren ilerleyici bir demiyelinizasyon hastalığıdır (1,2). Etyolojisinde yavaş virusların rol oynayabileceğine ilişkin ilk görüşler 1959 yılında ileri sürülmüş ve daha sonra bu olgularda oligodendroglia hücrelerinde papova viruslara benzeyen viral yapılar belirlenmiştir (40-42). Daha sonraki çalışmalarda, beyin materyalinden JC ve SV40-PML virusu olmak üzere iki papova virus suşu izole edilmiştir (17). Klinik olarak demans, spastisite, istemsiz hareketler, körlüğe kadar giden görme bozukluğu, bulber ve psödobulber paraliziler ve konuşma bozuklukları görülmektedir.

MULTİPL SKLEROZ (MS) : MS optik sinir, spinal kord, beyin ve beyin sapında demiyelinizan plaklarla karakterize, klinikte kuvvetsizlik, görme bozukluğu, diplopi, nistagmus, dizartri, çeşitli emosyonel bozukluklarla giden, henüz etyolojisi tam olarak aydınlatılmamış kronik bir hastalıktır (43).

Son yıllarda multipl skleroz etyolojisinde virusların ve hücre sel immün mekanizmaların rolüne değinen çalışmalar artmış ve özellikle kızamık virusuna ait bazı izolasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir (7, 44-47).

MS'da demiyelinizasyonun oluşumu, hastalığın aralıklı ve uzun süreli seyri, olayın bir virusa bağlı olabileceğini veya bir enfeksiyon sonucunda gelişebileceğini düşündürmektedir.

Virusa yönelen hücrel immün tepkilerin, santral sinir sisteminde, sinir dokusunda doğrudan doğruya harabiyet yapması mümkündür. Öte yandan virusların doku uygunluk antijenlerini değiştirmeleri ve değişen bu antijenlerin sitotoksik reaksiyonlar için hedef durumuna geçmeleri olasıdır (48,49).

MS'lu hastalarda etyolojiye yönelik virolojik ve immünolojik çalışmalar kızamık virusu üzerinde yoğunlaşmaktadır (8,47,50). Bunun yanı sıra, hastalarda diğer viruslara karşı da hücrel immün yanıtta değişiklikler gözlenmektedir (51-53).

**PARKİNSON HASTALIĞI :** Parkinson hastalığı hareketlerde yavaşlama, azalma, otomatik hareketlerde zayıflama, kas tonusunda artış, üst ekstremitelerde hakim olan ve frekansı saniyede 4-8 arasında bulunan titreme ile giden dejeneratif özellikte, etyolojisine yönelik çok sayıda çalışma yapılmasına rağmen kesin bir sonuca varılamamış bir hastalıktır.

Parkinson hastalığında virolojik ve immünolojik çalışmalar ilk olarak 1930 yıllarında postensefalitik Parkinsonlu hastalarda uygulanmıştır. 1920 yıllarında salgın halinde görülen letarjik ensefalit sonucunda birçok Parkinsonlu olgunun ortaya çıktığı bildirilmiş (51)

ve letarjik ensefalitin viral bir kökene sahip olduğuna dikkat çekilmiştir.

1918-1919 yıllarında influenza ve letarjik ensefalit pandemilerinin birarada görülmesi postensefalitik Parkinsonismde influenza virusunun rol alabileceğini düşündürmüştü ve bunu vurgulayan önemli çalışmalardan birisi de 1966'da Elizan ve arkadaşları tarafından Guam-Parkinson-demans hastalığı ile ilgili olarak yürütülmüştür (55). Son yıllarda postensefalitik Parkinsonismmin yanısıra, idiopatik türün de santral sinir sisteminin potansiyel bir yavaş virus enfeksiyonu sonucunda geliştiğini ileri süren çalışmalar yapılmıştır (56,57).

1977'de Marttila ve arkadaşları postensefalitik Parkinsonlu hasta serumunda influenza virusuna ait etyolojik anlamda önemli bir artış saptayamamışlardır (11). Buna karşılık, bu çalışmadan daha önce yapılan diğer bir araştırmada Gambia ve arkadaşları postensefalitik Parkinsonlu 6 hastanın beyinlerinde direkt immünofloresans yöntemi ile bazı influenza virusu suşlarına karşı intranükleer floresans saptamışlardır (58). Bu sonucun etyolojik bir anlam taşıması için daha ileri serolojik kanıtlara ve virus izolasyon çalışmalarına gereksinim olduğu şüphesizdir.

Postensefalitik Parkinsonismdeki bu çelişkili çalışmalara karşılık, son 15 yıl içinde idiopatik Parkinson hastalığında da yavaş virus enfeksiyonlarının rolüne değinen sınırlı araştırmalar yapılmıştır. Bu çalışmaların sonuçları da henüz viral bir etyolojiyi kesin

olarak kanıtlamaktan uzaktır.

İdiopatik Parkinsonlu hastalarda yapılan viral ve immünolojik çalışmalar özellikle Herpes simpleks ve İnfluenza virusları üzerinde yoğunlaşmaktadır. Marttila ve arkadaşları 1977'de kompleman fiksasyon yöntemiyle Herpes simpleks virusuna karşı antikorların idiyopatik Parkinsonlularda arttığını göstermişlerdir (12). Aynı araştırmacılar, indirekt immüofloresans yöntemiyle de çok sayıda idiyopatik Parkinsonlu hastada HSV antikorlarında önemli derecede artış belirlemişlerdir. Hemaglutinasyon inhibisyon testi ile idiyopatik Parkinsonlularda influenza virusu antikorlarının yüksek olmadığı saptanmıştır (11). Elizan ve arkadaşlarının çalışmalarında idiyopatik Parkinsonlu olguların serumlarında çeşitli serolojik yöntemlerle HSV tip 1, HSV tip 2, sitomegalovirus, kızamık ve rubella viruslarına karşı antikor aranmış, ancak bu çalışmalarda etyolojik bağlantı kurduracak bir sonuç elde edilmemiştir.

**AMYOTROFİK LATERAL SKLEROZ (ALS) :** ALS kol ve ellerde atrofi, kuvvetsizlik, bacaklarda spastisite, fascikülasyon ve derin tendon reflekslerinde artış ile giden, etyolojisi bilinmeyen dejeneratif bir hastalıktır (13). Etiyolojisinde endojen ve eksojen toksinler, nöronların biyokimyasal bozuklukları, genetik faktörler, immünolojik ve endokrin faktörler, yavaş virus enfeksiyonları ve motor nöronlarda DNA anormalliği üzerinde durulmuştur (59).

Bu görüşler içinde en fazla ilgi toplayanlar viruslara ve DNA yapısına yönelik olan çalışmalardır. Bu hastalarda kızamık, adeno, koksaki ve polio (tip 1,2,3) viruslarına karşı antikörler araştırılmış ve poliovirus (tip 1,2,3) antikörlerinde, diğer nörolojik hastalıklar ve normallere oranla önemli derecede artış kaydedilmiştir (60). Diğer viral antikörlerde gruplar arasında önemli bir fark bulunmamıştır. ALS ve poliomyelit ön kökler, bulbar ve motor korteks nöronlarında harabiyetle gittiğinden, bazı araştırmacılar bu iki hastalık arasında kozal bir ilişki kurmaktadır (61). ALS'lu hastalarda poliovirus hem santral sinir sisteminden hem de diğer dokulardan izole edilememiştir. Ayrıca bazı çalışmalarda ise, normal kontrollerle ALS'lu hastalar arasında poliovirus antikörleri titresinde bir farklılık bulunmamıştır (15,62). ALS ve Guam-Parkinson-Demens kompleksinde influenza virusuna karşı antikörlerin arttığı (55), ancak kabakulak virusuna karşı antikörlerde artış olmadığı saptanmıştır (15).

ALS'lu hastalarda sıvısal cevapta, serum ve BOS immün kompleks konsantrasyonunda ve immün interferon miktarında kontrollere göre önemli bir fark bulunmamıştır. Buna karşılık hücrel immün yanıtlarda gecikme dikkati çekmekte ve bunun patogeneizde rol alabileceği düşünülmektedir (60).

ALS etyolojisinde son yıllarda üzerinde durulan diğer bir görüş de motor nöronlardaki DNA anormalliği ve bunun sonucunda transkripsiyon ve translasyonun

normal yapılamayı ve nöronal metabolik fonksiyonların bozularak hücrenin ölümüdür (59). ALS'da motor nöronların uzun süre normal fonksiyon görmesi, sonra aniden 1-2 yıl içinde tamamen harabolmasının nedeni halen tam olarak aydınlatılamamıştır, ancak DNA hipotezi bu soruya bir açıklık getirebilir. DNA'yı tamir eden enzimlerden birisinin aktivitesi genetik veya viral kökenli olarak azalır, meydana gelen hasarlı DNA uzun bir sürede motor nöronlarda birikecektir. Bu durum kendisini, bir grup protein sentezinde yapısal ve enzimatik eksiklik olarak gösterecektir. DNA onarımının giderek azalmasıyla, hücre dejenere olacaktır.

Son yıllarda virolojik çalışmalarda kullanılan nükleik asit hibridizasyon yöntemiyle virus nükleik asitlerinin küçük parçacıklarını dahi değerlendirmek mümkün olmuştur. Yöntem 15 ALS'lu ve kontrol olgusuna uygulanmış, ancak poliovirus RNA'sına benzer reaksiyon elde edilememiştir (63). Virus araştırma sonuçları çeşitlilik göstermesine rağmen, ALS'lu hastalarda normal kişilere göre daha önceki yaşlarda paralitik polio geçirme insidansının yüksek oluşu (64), immünolojik yanıtlarda değişikliklerin gözlenmesi (65), ön köklerde (66) ve kaslarda (67) virusa benzer partiküllerin ve jejunal mukozada viral antijenlerin gösterilmesi (68), halen etyolojide virusların rolünün kuvvetle muhtemel olduğunu vurgulamaktadır.

Dejeneratif ve demiyelinizan sinir sistemi hastalıklarında yapılan virolojik çalışmalar, hastalık için kozal bir ilişkiye varmak açısından henüz yeterli

değildir ve farklı yöntemlerle yapılan araştırmalar bazen birbiriyle çelişen sonuçlar vermektedir. Bütün bu bilgilerin ışığı altında, sinir sisteminin dejeneratif ve demiyelinizan hastalıklarında virusların rolü henüz kesinlik kazanmamakla birlikte oldukça karmaşık bir durum arz etmektedir.

Çalışmamızda sinir sisteminin henüz etyolojisi karanlık olan dejeneratif ve demiyelinizan hastalıklarında ve kontrol olgularında viral antikorların sıklığı ve etyopatogenezdeki rollerini araştırmak amacıyla serum ve beyin-omurilik sıvılarında Herpes simpleks tip 1, kızamık, parainfluenza tip 1 virusuna karşı antikorlar ve daha önce literatürde değinilmemiş olan heterofil antikorların varlığı araştırılmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

1980 ve 1984 yılları arasında, yaşları 6 ilâ 67 arasında değişen , SSPE, MS, Parkinson hastalığı ve ALS'lu 113 hasta ve 50 normal kişiden kan alınarak serolojik testler için serumları ayrıldı. Bu amaçla hastadan 5 cc kan serolojik tüplere alınıp 1200 rpm.de santrifüj edilerek serumlar ayrıldı. Serumlar ve BOS'ları ağız kapalı tüplere konarak - 20°C'da serolojik deneyler yapılana kadar saklandı.

### Hücre Kültürleri :

Kızamık virusu üretmek için Vero (Devamlı maymun böbrek hücre kültürü), HSV tip 1 içinse Vero ve Hep-2 (Human epidermoid carcinoma devamlı hücre kültürü) hücreleri kullanıldı. Hep-2 hücreleri orijinal olarak Flow Lab. Irvine, İskoçya'dan temin edildi. Hücreler 5-6 gün ara ile pasaja tabi tutuldular.

Hücre kültürleri için MEM (minimal essential medium) vasatı, % 10 fötal dana serumu ve mililitrede 100 ünite penisilin, 100 mikrogram streptomisin ilavesiyle kullanıldı (69).

Hücreler 200 cc.lik hücre kültürü (Jena glass) şişelerinde üretildi. Hücre kültürü vasatlarının pH'ları,

gereklikçe % 7.8'lik  $\text{NaHCO}_3$  ile nötral pH'ya ayarlandı.

#### Viruslar ve Kontrol Serumlar :

Kızamık (Edmonston 84 F suşu), HSV tip 1 (Mayo suşu), PI tip 1 (Sendai suşu) ve kontrol serumlar NIH, Bethesda, Maryland, ABD'den sağlandı.

#### Solüsyonlar :

Hemaglutinasyon önlenim (HÖ) deneyi ve heterofil aglutinasyon testinde (HAT) kullanılan % 09'luk NaCl (Serum fizyolojik, SF) Hacettepe Hastaneleri Eczanesi'nden sağlandı. Kompleman birleşmesi deneyinde (KBD) kullanılan Veronal Buffer (VB) aşağıdaki formüle laboratuvarımızda hazırlandı.

#### 5X VB

NaCl	85.00 g
5:5 dietil barbitürik asit	5.75 g
Na 5:5 dietil barbitürat	2.00 g
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1.68 g
$\text{CaCl}_2$	0.28 g

Barbitürik asit 500 ml sıcak iyonsuz suda çözülerek diğer maddeler eklenip 2000 ml.ye tamamlandı. Otoklavda sterilize edilip kullanılıncaya kadar  $+4^\circ\text{C}$ 'da saklandı. Kullanılmadan önce 1/5 oranında iyonsuz suda sulandırılıp pH'sı 7.2'ye ayarlandı.

Alsever solüsyonu ise aşağıdaki maddelerin 1000 cc iyonsuz su içinde eritilip Seitz filtresinden süzülüp, sterilize edilmesiyle hazırlandı. Daha sonra  $+4^\circ\text{C}$ 'da saklandı.

## Maddeler

Dekstroz	20.5 g
Sodyum sitrat $2H_2O$	8.0 g
Sitrik asit $H_2O$	0.55 g
NaCl	4.2 g

### Eritrositler :

KBD ve HAT için koyun, HÖ deneyi için horoz eritrositleri kullanıldı. Bu eritrositlerin elde edilmesi için koyun ve horozdan alınan kanlar Alsever solüsyonu içinde 20 güne kadar  $+4^{\circ}C$ 'da saklandı. Eritrositler kullanılmadan önce 3 kez KB deneyi için VB, HÖ deneyi ve HAT için SF ile yıkandı. Paket eritrosit hacmi üzerinden gerekli oranlarda sulandırılmalar yapıldı (69).

### Hemolitik Serum (Hemolizin) :

KB deneyinde kullanılan, tavşanda hazırlanmış hemolitik serum Dr. Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü'nden sağlandı (Titre 1/3000).

### Kompleman :

Erkek kobay kalp kanı alınarak serumu ayrıldı. Her tüpe 0.2 ml bölünerek  $-20^{\circ}C$ 'da kullanılabilecek kadar saklandı.

### Virus Üretilmesi :

Kızamık virusu Vero, HSV tip 1 Vero ve Hep-2 hücre kültürlerinde, PI tip 1 virusu ise 9 günlük embriyonlu yumurtanın koriyoallantoik kesesinde standart yöntemlerle üretildi (69).

Ekim için stok virustan tek tabaka hücre kültürüne 0.1 cc ekildi. 1.5 saat adsorbsiyondan sonra vasatları

eklenerek 37°C'da inkübasyona bırakıldı. Gerektikçe pH'ları ayarlanarak veya vasatları değiştirilerek sitopatik etki gözlenene kadar (7-10 gün) bekletildi (69).

#### Antijenlerin Hazırlanması :

Hücre kültürlerinde kızamık ve HSV tip 1'e bağlı tam sitopatik etki gözlendikten sonra hücrelerin vasatı döküldü. Enfekte hücreleri içeren şişelere 4'er ml PBS (phosphate buffer saline) kondu. Üç kez dondurulup çözüldü. Böylece hücre içindeki viruslar serbest duruma geçmiş oldu. Daha sonra ağzı kapalı tüplere alınıp 2500 devir/dakikada 20 dakika santrifüj edildi. İyice pipetlenerek tekrar 1500 devir/dakikada santrifüj edildi. Parçalanmış hücreler bu şekilde çöktürüldükten sonra üstteki sıvı küçük miktarlarda (0.4 ml) tüplere dağıtılarak donduruldu ve titreleri "chess board" ile saptanarak gerektiğinde antijen olarak kullanıldı (69).

PI tip 1 virusu embriyonlu tavuk yumurtasının allantoik kesesinde üretildi. Yumurtalar embriyoları öldürmek ve kanamayı önlemek için bir gece + 4°C'da bekletildikten sonra allantoik sıvılar pipetlerle toplandı. Her bir yumurtaya ait enfekte sıvı ayrı ayrı tüplerde 2500 devir/dakikada santrifüj edildi. Üstteki virus içeren sıvılar antijen olarak kullanıldı (69).

#### Mikroteknik Gereçleri :

KB, HÖ ve heterofil aglutinasyon deneylerinde kullanılan mikroteknik gereçleri :

1. U pleytleri : 96 (8X12) oyuk içerir ve tabanı U şeklidir.
2. "Microdiluter" (Loop): 0.025 ml sıvı tutar
3. "go-no-go" test kağıtları: Üzerindeki her bir daire 0.025 ml sıvı emer. "Loop"ları kontrol etmede kullanılır.
4. Damlalık pipeti: 0.025 ml veya 0.050 ml damla veren mikropipettir.
5. Emici kağıtlar: Yüzey gerilimini önlemek için, kullanılan mikropipetlerin ucunu temizleyen kurutma kağıtlarıdır.
6. Test okuma aynası: Test sonuçlarını okumada kullanılan konkav aynadır.

#### Kompleman Birleşmesi Deneyi (KBD) :

Deney serumlarında HSV tip 1 ve kızamık virusuna karşı antikörlerin araştırılmasında KBD kullanıldı. KBD'inde deneye girecek olan kompleman, hemolitik serum, antijenin uygun oranlarda olması gerektiğinden, esas deneyden önce, hemolitik serum (HS) ve komplemanın, antijen ve pozitif antiserumun titrasyonları "chess board" deneyleri ile yapıldı.

#### Hemolitik Serum ve Kompleman Titrasyonu :

Önce 10 adet serolojik tipte komplemanın 1/2'den başlayan, iki misli artan seri sulandırılmaları yapıldı (1/2 den 1/1028e kadar).

4 pleytin çalışılacak tüm çukurlarına damlalık pipetiyle 0.050 ml (esas deneydeki antijen ve antiserum yerine)

VB kondu. HS kontrol çukurlarına ayrıca 0.025 ml VB (kompleman yerine) damlatıldı. En yüksek sulandırımından başlayarak her bir sulandıırma tekabül eden yukarıdan aşağıya her bir sıradaki çukurlara ayrı bir sulandırımından 0.025 ml kompleman damlatıldı. Pleyt çalkalanarak üzeri kapatılıp + 4°C'da bir gece bekletildi.

Ertesi gün 6 serolojik tüpe HS'un 1/50'den başlayan iki misli artan seri sulandıırımları yapıldı. Her tüpteki sulandıırımlar üzerine hemolitik seruma eşit hacimlerde % 4'lük koyun eritrosit suspansiyonundan eklendi. HS ve koyun eritrositleri içeren tüpler çalkalandıktan sonra 37°C'lık su banyosunda 10 dakika bekletildi. Deney pleyti ise 20 dakika 37°C'lık etüvde bekletildi.

En yüksek sulandırımından başlayarak hemolitik serum ve koyun eritrositlerinin her bir sulandıırımından ayrı bir sıradaki çukurlara 0.025 ml damlatıldı. Pleyt 10 dakikada bir çalkalanarak 30 dakika, çalkalanmadan 30 dakika olmak üzere toplam bir saat 37°C'da bekletildi. Üzeri kapatılarak + 4°C'da bir gece bekletildikten sonra ertesi gün sonuçlar değerlendirildi.

#### Değerlendirme :

Hemolitik serumun optimum duyarlılaştırma dozu, komplemanın en yüksek sulandıırımı ile hemoliz veren sulandıırım oranıdır. Deneyde bu titre 1/400 olarak bulundu. Esas deneyde HS 2Ü kullanılacağından HS 1/200 oranında sulandıırılarak kullanıldı.

Komplemanın oluşturduğu % 50 hemoliz, % 100 hemolizden daha duyarlı bir ölçüt olması nedeniyle, % 50

hemoliz oluşturan kompleman sulandırımı 1 ünite kompleman olarak kabul edildi (1 ünite kompleman = 1 hemolitik doz % 50 = 1 HD50). Deneyde 1 ünite kompleman 1/128 sulandırım olarak bulundu. Esas deneyde 4 ünite kompleman kullanıldığından, stok kompleman 1/32 oranında sulandırılarak kullanıldı.

#### Antijen ve Pozitif Antiserum Titrasyonu :

6 adet serolojik tüpte antijenin 1/2'den 1/64'e kadar iki misli artan seri sulandırımları yapıldı. Diğer 6 serolojik tüpte pozitif antiserumun 1/8'den 1/256'ya kadar iki misli artan seri sulandırımları yapıldı.

U pleytin kompleman kontrolleri ve HS kontrolleri haricinde çalışılacak tüm çukurlarına 0.025'er ml VB damlatıldı. Ayrıca antiserum kontrol çukurlarına 0.025'er ml VB (antijen yerine), antijen kontrol çukurlarına da 0.025'er ml VB (antiserum yerine) damlatıldı.

Antijen sulandırımlarından soldan sağa karşılıklarına gelen çukurlara 0.025 ml damlatıldı. Antiserum sulandırımlarından yukarıdan aşağıya karşılıklarına gelen çukurlara 0.025'er ml damlatıldı. Daha sonra HS kontrol çukuru hariç, bütün çukurlara 1/32 sulandırılmış komplemandan 0.025'er ml damlatıldı. HS kontrol çukuruna ise 0.075'er ml VB damlatıldı.

Komplemanın 4 ünite, 2 ünite ve 1 ünite olmak üzere üç ayrı kontrolü hazırlandı. Bunun için 4 ünite kompleman kontrolü çukuruna 0.050 ml VB ve 0.025 ml kompleman (4 Ü) kondu. 2 ünite ve 1 ünite kompleman kontrolleri

için önce her iki çukura 0.025'er ml VB damlatıldı. Sonra 2 ünite kontrolüne diluterle 0.025 ml kompleman (4 Ü) konarak, buradan 1 ünite kompleman kontrol çukuruna 0.025 ml aktarıldı. Her iki çukura 0.050'şer ml VB damlatıldı. Pleyt çalkalanıp üzeri kapatıldıktan sonra + 4°C'da bir gece bekletildi.

Ertesi gün % 4'lük koyun eritrositleri ve 1/200 sulandırımında hemolitik serum eşit miktarlarda karıştırıldı. Hazırlanan bu hemolitik sistem 37°C'lık su banyosunda 10 dakika bekletildi. Deney pleyti ise 37°C'lık etüvde 20 dakika ısıtıldı. Tüm kontroller dahil bütün çukurlara HS'dan 0.025'er ml damlatıldı. Pleyt çalkalanarak 37°C'lık etüve kaldırıldı. Burada 10 dakikada bir çalkalanarak 30 dakika, çalkalanmadan 30 dakika olmak üzere toplam bir saat inkübe edildi ve sonuçlar okundu.

#### Değerlendirme :

Antijen kontrollerinde antiserum olmadığından kompleman hemolitik sisteme kaldığı için bu çukurlarda tam hemoliz gözlemlendi. Böylece hazırlanan kızamık ve HSV tipli antijeninin ve pozitif antiserumların antikomplemanter etkinliğinin olmadığı saptanmış oldu.

HS kontrollerinde kompleman olmadığı için hemoliz gözlemlenmedi.

Kompleman kontrollerinden 1 ünite kontrolünde % 50 hemoliz, diğerlerinde ise tam hemoliz gözlemlendi. Deneyde en yüksek antiserum sulandırımı ile % 50 birleşme veren en yüksek antijen sulandırımı 1 ünite olarak kabul

edildi ve kızamık için 1/16, HSV tip 1 için 1/32 olarak bulundu. Esas deneyde 4 ünite antijen, yani elde edilen antijenin, kızamık için 1/4, HSV içinse 1/8 sulandırımı kullanıldı.

#### Kompleman Birleşmesi Deneyi (KBD) :

U pleytin çalışılacak tüm çukurlarına 0.025 ml VB damlatıldı. Hasta serumlarının "diluter"larla seri sulandırılmaları yapıldı. Her serum için ilk çukur serum kontrolü olarak kullanıldı.

Serum kontrol çukurlarına antijen yerine 0.025 ml VB damlatıldı. Komplemanın 4 ünite, 2 ünite, 1 ünitelik kontrolleri ve HS kontrolleri daha önce anlatıldığı şekilde hazırlandı. Antijen kontrol çukurlarına hasta serumu konmadı.

Antijen 1/2 sulandırılarak antijen kontrolleri dahil diğer kontroller hariç bütün çukurlara 0.025'er ml damlatıldı. Pleytler iyice çalkalandıktan sonra üzeri kapatılarak + 4°C'da bir gece bekletildi. Bundan sonraki işlem antijen ve antiserum titrasyonu bölümünde anlatıldığı şekilde yapıldı.

#### Değerlendirme :

% 50 hemoliz veren serumun en yüksek sulandırımı, o serumun antikor titresi olarak kabul edildi (69).

#### Hemaglutinasyon Deneyi :

HÖ deneyinde kullanılacak PI tip 1 virusunun titrasyonu için hemaglutinasyon deneyi kullanıldı.

U pleytin çalışılacak tüm çukurlarına damlalık pipetiyle 0.025 ml SF damlatıldı. İlk sıradaki çukurlara 0.025 ml virus "diluter"larla kondu ve seri sulandırılmaları yapıldı. Eritrosit kontrol çukuru hariç tüm çukurlara 0.025 ml SF damlatıldı. Eritrosit kontrol çukuruna sadece 0.050 ml SF damlatıldı. Kontrol dahil tüm çukurlara 0.050 ml %05'lik kobay eritrositi sulandırımından damlatıldı. Pleyt çalkalanarak oda ısısında bir saat bekletildi ve sonuç okundu.

#### Değerlendirme :

Tam aglutinasyon gösteren en yüksek sulandırım gözlenerek antijenin 1 HA ünitesi saptandı. HÖ deneyinde 4 HA ünitesi antijen kullanıldı.

#### Hemaglutinasyon Önlenim Deneyi :

Deney serumlarında PI tip 1 virusuna karşı HÖ antikorlarının aranmasında kullanıldı. Deneyden önce, 0.2 ml seruma 0.8 ml RDE (reseptör tahrip eden enzim, Wellcome, İngiltere) 1/10'luk sulandırımından eklendi. Bütün serumlar aynı işlemde geçirilip 37°C'lık su banyosunda bir gece bekletildi. Ertesi gün RDE'nin etkisini gidermek için her tüpe % 2.5'luk sodyum sitrat solüsyonundan 0.6 ml eklendi ve 56°C'da 30 dakika bekletildi. Başlangıç serum sulandırımını 1/10 yapmak için 0.4 ml SF kondu.

U pleytlerinin çalışılacak tüm çukurlarına 0.025 ml SF damlalık pipetiyle damlatıldı. İlk çukurlara RDE ile işleme sokulmuş hasta serumundan 0.025 ml "diluter"la kondu ve seri sulandırılmaları yapıldı.

Tüm çukurlara 4 HA ünitesi virus sulandırımından 0.025'er ml damlatıldı. Eritrosit kontrolüne sadece 0.050 ml SF kondu. Antijen kontrolüne ise 0.025 ml SF ve 0.025 ml 4 HA ünitesi virus kondu. Pleyt iyice çalkalanarak oda ısısında 30 dakika bekletildi.

Kontroller dahil tüm oyuklara %05'lik kobay eritrositlerinden 0.050'ser ml damlatıldı. Deney pleytleri bir saat oda ısısında bekletildikten sonra sonuçlar değerlendirildi.

Değerlendirme :

Eritrosit kontrol çukurunda eritrositlerde çökme, antijen kontrol çukurunda hemaglutinasyon gözlemlendi. Hemaglutinasyonun tam olarak önleendiği en yüksek serum sulandırımı o serumun antikor titresini verdi.

Heterofil Aglutinasyon Deneyi :

Deney serumlarında heterofil antikorların aranmasında heterofil aglutinasyon deneyi kullanıldı.

U pleytinin çalışılacak tüm çukurlarına damlalık pipeti ile 0.025 SF damlatıldı. İlk sıradaki çukurlara 0.025 ml hasta serumu diluter ile kondu ve seri sulandırılmaları yapıldı (1/2 → 1/1024). Eritrosit kontrol çukuru hariç diğer çukurlara 0.050 ml SF damlatıldı. Eritrosit kontrol çukuruna sadece 0.075 ml SF damlatıldı. Kontrol dahil tüm çukurlara 3 defa SF ile yıkanmış % 1'lik koyun eritrositi damlatıldı.

Pleyt çalkalanarak 2 saat 37°C'da etüvde bekletilip sonra + 4°C'a kondu. Bir gece bekletilip, ertesi gün

sonuçlar okundu.

Değerlendirme :

Aglutinasyon görülen en yüksek serum sulandırımı titre olarak kaydedildi.

Çalışmada istatistiki analiz ve önem kontrolleri Yates düzeltmeli Ki-kare ve Fisher'in kesin Ki-kare testi kullanılarak yapıldı (70).

## BULGULAR

Kızamık ve HSV tip 1'e karşı antikorlar hastaların serumlarında ve BOS'larında KB deneyi ile araştırılmış ve serum ve BOS'daki KB antikorları 1/4 ve üzeri ile 1/16 ve üzeri olarak ayrı ayrı değerlendirilmiştir. PI tip 1'e karşı antikorlar HÖ deneyi ile araştırılmış ve 1/20 ve üzerindeki titreler, heterofil antikorlar HAT ile araştırılmış ve 1/128 ve üzerindeki titreler pozitif kabul edilmiştir.

Dejeneratif ve demiyelinizan hastalıklar ve kontrol grubu olgularda serum ve BOS'da kızamık KB antikor titreleri tablo I'de gösterilmiştir. Bu tabloya göre SSPE'li hastaların serum ve BOS'larında 1/4 ve üzerindeki antikor titreleri göz önüne alındığında kontrol grubu ile aradaki fark çok önemli derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla  $p = 0.000049$  ve  $p = 0.0000030$ ). 1/16 ve üzerindeki titreler yönünden ise SSPE'li hasta serumlarında kontrol grubu olgulara göre fark çok önemli ( $p < 0.001$ ), SSPE'li BOS'larında ise fark önem sınırında saptanmıştır ( $p = 0.049$ ).

Multipl sklerozlu hastaların serumlarında kontrol grubuna nazaran 1/4 ve üzerinde önemli derecede titre artışı saptanırken ( $p < 0.01$ ), BOS'larında fark önemsiz bulunmuştur ( $p = 1$ ). 1/16 ve üzerindeki antikor titreleri yönünden MS'lu hasta serumlarında kontrol grubuna göre

**TABLO I - DEJENERATİF VE DEMİYELİNİZAN HASTALIKLAR VE KONTROL GRUBU OLGULARDA SERUM VE BOS'DA**

**KIZAMIK KB ANTİKOR TİTRELERİ\***

Antikor Titresi :	< 1/4	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64
<b>Subakut Sklerozan Panensefalit</b>						
a. Serum (n = 14)	-	-	1 (7.14)	2 (14.29)	7 (50.00)	4 (28.57)
b. BOS (n = 14)	2 (14.29)	2 (14.29)	6 (42.86)	4 (28.57)	-	-
<b>Multipl Skleroz</b>						
a. Serum (n = 31)	5 (16.13)	5 (16.13)	7 (22.58)	6 (19.35)	7 (22.58)	1 (3.23)
b. BOS (n = 10)	10 (100.0)	-	-	-	-	-
<b>Parkinson Hastalığı</b>						
a. Serum (n = 35)	19 (54.29)	9 (25.71)	7 (20.00)	-	-	-
b. BOS (n = 11)	11 (100.0)	-	-	-	-	-
<b>Amyotrofik Lateral Skleroz</b>						
a. Serum (n = 15)	8 (53.33)	4 (26.67)	3 (20.00)	-	-	-
b. BOS (n = 7)	7 (100.0)	-	-	-	-	-
<b>Kontrol</b>						
a. Serum (n = 50)	29 (58.00)	13 (26.67)	8 (16.00)	-	-	-
b. BOS (n = 14)	14 (100.0)	-	-	-	-	-

\* Parantez içindeki değerler % leri göstermektedir

fark çok önemli bulunurken ( $p = 0.00000015$ ), BOS'larında fark önemsiz olarak saptanmıştır ( $p > 0.05$ ). Parkinsonlu ve ALS'lu hastaların serum ve BOS'larında kızamık KB antikor titreleri hem 1/4 ve üzerinde, hem de 1/16 ve üzerinde kontrol grubu olgulara göre önemli bir fark göstermemiştir ( $p > 0.05$ ).

Tablo II'de dejeneratif ve demiyelinizan hastalıklar ve kontrol grubu olgularda kızamık virusuna karşı KB antikorlarının seropozitiflik oranının yaş gruplarına göre dağılımı incelenmiş ve yaş grupları ile seropozitiflik oranı arasında istatistikî olarak önemli bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

Yaşları 6-19 arasında değişen 17 SSPE'li, yaşları 18-40 arasında değişen 36 MS'lu ve yaşları bu yaş gruplarına uyan 26 kontrol olgusunun doğal kızamık enfeksiyonu ve kızamık aşı öyküleri Tablo III'de gösterilmiştir. Kızamık öyküsü yönünden SSPE ve MS'lu olgular ve kontroller arasındaki fark istatistiksel açıdan çok önemli bulunmuş (sırasıyla  $p = 0.0083$  ve  $p = 0.0013$ ), SSPE ve MS'lu hastalar karşılaştırıldığında fark önemsiz olarak saptanmıştır ( $p = 0.617$ ).

Tablo IV'de dejeneratif, demiyelinizan hastalıklar ve kontrol grubu olgularda serum ve BOS'ta HSV tip 1 KB antikor titreleri gösterilmiştir. Bu tabloya göre, SSPE'li ve MS'lu hastaların serum ve BOS'larında kontrol grubuna göre, hem 1/4 ve üzerinde, hem de 1/16 ve üzerindeki antikor titrelerinde istatistikî olarak önemli bir fark

TABLO II - DEJENERATİF VE DEMİYELİNİZAN HASTALIKLAR VE KONTROL GRUBU OLGULARDA KIZAMIK VİRUSUNA  
KARŞI KB ANTİKORLARININ SEROPOZİTİFLİK ORANININ YAŞ GRUPLARINA GÖRE DAĞILIMI\*

Yaş Grupları (Yıl)	Toplam Serum Sayısı	Kızamık KB Antikorları
Subakut Sklerozan Panensefalit		
6-10	9	9 (100.0)
11-20	5	5 (100.0)
Multipl Skleroz		
11-20	6	5 (83.33)
21-30	16	14 (87.50)
31-40	9	7 (77.78)
Parkinson Hastalığı		
31-40	5	2 (40.00)
41-50	12	6 (50.00)
51-60	18	8 (44.44)
Amyotrofik Lateral Skleroz		
51-60	8	4 (50.00)
61-70	7	3 (42.86)
Kontrol		
6-10	7	5 (71.43)
11-20	5	4 (80.00)
21-30	6	3 (50.00)
31-40	8	3 (37.50)
41-50	10	4 (40.00)
51-60	9	2 (22.22)
61-70	5	- (0)

\* Parantez içindeki değerler % leri göstermektedir

TABLO III - SSPE'Lİ, MS'LU HASTALAR VE KONTROL GRUBU OLGULARDA KIZAMIK ÖYKÜSÜ VE AŞI DURUMLARI\*

<u>Grup</u>	<u>Sayı</u>	<u>Yaş Sınırları (Yıl)</u>	<u>Kızamık Öyküsü</u>	<u>Kızamık Aşısı</u>
SSPE	17	6 - 19	16 (94.12)	1 ( 5.88)
MS	36	18 - 40	33 (91.67)	3 ( 8.33)
Kontrol	26	6 - 40	15 (57.69)	11 (42.30)

\* Parantez içindeki değerler % leri göstermektedir

TABLO IV - DEJENERATİF, DEMİYELİNİZAN HASTALIKLAR VE KONTROL GRUBU OLGULARDA SERUM VE BOS'DA  
HSV TİP I KB ANTİKOR TİTRELERİ\*

Antikor Titresi	< 1/4		1/4		1/8		1/16		1/32		1/64		1/128	
<b>1.SSPE</b>														
a. Serum (n=17)	12 (70.59)	5 (29.41)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b. BOS (n=16)	16 (100.0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>2.MS</b>														
a. Serum (n=36)	20 (55.56)	10 (27.78)	5 (13.89)	1 (2.78)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b. BOS (n=15)	15 (100.0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>3.Parkinson H.</b>														
a. Serum (n=42)	1 (2.38)	-	6 (14.29)	14 (33.33)	16 (38.10)	4 (9.52)	1 (2.38)	-	-	-	-	-	-	-
b. BOS (n=12)	2 (16.67)	-	7 (58.33)	3 (25.00)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>4.ALS</b>														
a. Serum (n=18)	6 (33.33)	4 (22.22)	3 (16.67)	2 (11.11)	2 (11.11)	1 (5.56)	-	-	-	-	-	-	-	-
b. BOS (n=8)	8 (100.0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>5.Kontrol</b>														
a. Serum (n=50)	33 (66.00)	10 (20.00)	7 (14.00)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
b. BOS (n=14)	14 (100.0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

\* Parantez içindeki değerler % leri göstermektedir

bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Parkinsonlu hastaların serum ve BOS'larında kontrol grubu olgulara göre 1/4 ve üzerindeki HSV tip 1 KB antikorlarında çok önemli derecede artış bulunmuş (sırasıyla  $p < 0.001$ ) ve  $p = 0.000012$ ), 1/16 ve üzerindeki titrelerde ise hasta serumlarında kontrol grubuna göre çok önemli bir artış ( $p < 0.001$ ) saptanırken, BOS'ları arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ( $p = 0.05$ ). ALS'li hastaların serumlarında hem 1/4 ve üzerinde, hem de 1/16 ve üzerindeki titrelerde kontrol grubu olgulara göre HSV tip 1 KB antikorlarında önemli derecede artış bulunurken (sırasıyla  $p < 0.05$  ve  $p = 0.00000543$ ), BOS antikorlarında kontrol grubuna göre farklılık saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ).

Tablo V'de dejeneratif, demiyelinizan hastalıklar ve kontrol grubu olgularda HSV tip 1'e karşı KB antikorlarının seropozitiflik oranının yaş gruplarına göre dağılımı gösterilmiştir. Bu tabloya göre SSPE ve MS'lu hastalar ile kontrol grubu olgular HSV tip 1 KB antikorlarının seropozitiflik oranı yönünden yaş gruplarına göre istatistiksel olarak önemli bir fark göstermemişlerdir ( $p > 0.05$ ).

Parkinson hastalığı ve kontrol grubu olgular arasında ise 31-40 yaş arası fark önem sınırında iken ( $p = 0.051$ ), 41-50 ve 51-60 yaş için istatistiki açıdan fark çok önemli bulunmuştur ( $p > 0.001$ ).

ALS'li hastalar ve kontrol grubu olgularda ise 51-60 ve 61-70 yaş arasında fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur ( $p = 0.02$  ve  $p = 0.03$ ).

TABLO V - DEJENERATİF, DEMİYELİNİZAN HASTALIKLAR VE KONTROL GRUBU OLGULARDA HSV TİP 1 KB ANTİKORLARININ SEROPOZİTİFLİK ORANININ YAŞ GRUPLARINA GÖRE DAĞILIMI\*

<u>Yaş Grubu (Yıl)</u>	<u>Toplam Serum Sayısı</u>	<u>HSV tip 1 KB Antikorları</u>
Subekut Sklerozan Panensefalit		
6 - 10	10	2 (20.00)
11 - 20	7	3 (42.86)
Multipl Skleroz		
11 - 20	7	3 (42.86)
21 - 30	19	9 (47.37)
31 - 40	10	4 (40.00)
Parkinson Hastalığı		
31 - 40	7	7 (100.0)
41 - 50	13	13 (100.0)
51 - 60	22	21 (95.45)
Amyotrofik Lateral Skleroz		
51 - 60	11	7 (63.64)
61 - 70	7	5 (71.43)
Kontrol		
6 - 10	7	3 (42.86)
11 - 20	5	3 (60.00)
21 - 30	6	4 (66.67)
31 - 40	8	4 (50.00)
41 - 50	10	2 (20.00)
51 - 60	9	1 (11.11)
61 - 70	5	- (0.0)

\* Parantez içindeki değerler % leri göstermektedir

Dejeneratif, demiyelinizan hastalıklar ve kontrol grubu olgularda serum ve BOS'da PI tip 1 HÖ antikor titreleri Tablo VI'da gösterilmiştir. Bu tabloya göre, SSPE'li hastaların serumları ile kontrol grubu serumları PI tip 1 HÖ antikorları yönünden, kontrol grubu olguların lehine olmak üzere, önemli fark göstermekte ( $p = 0.0043$ ), BOS'ları arasındaki fark ise önemsiz bulunmaktadır ( $p = 1$ ). MS, Parkinson ve ALS'li hastaların serum ve Bos'ları ile kontrol grubu olgular arasında PI tip 1 HÖ antikorları yönünden istatistiki olarak önemli bir fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

Tablo VII'de aynı grup hastalar ve kontrol olgularında PI tip 1 HÖ antikorlarının seropozitiflik oranının yaş gruplarına göre dağılımı gösterilmiştir. Bu tabloya göre SSPE, Parkinson ve ALS'li hastalar ve kontrol olguları PI tip 1 HÖ antikorlarının seropozitiflik oranı yönünden yaş gruplarına göre önemli bir fark göstermemişlerdir ( $p > 0.05$ ). MS'lu hastalar ve kontrol grubu olgular arasında ise 31-40 yaş arasında, kontrol grubu lehine, fark önemli bulunmuştur ( $p = 0.04$ ).

Tablo VIII'de dejeneratif, demiyelinizan hastalıklar ve kontrol grubu olgularda heterofil antikorların dağılımı incelenmektedir. Tablo VIII'e göre SSPE'li, MS'lu hastalar ve kontrol grubu olguların serum ve BOS'larında heterofil antikor titreleri pozitif değer olarak kabul edilen 1/128'in altında bulunmuştur. Parkinson ve ALS'li-lerde serum heterofil antikorları kontrollere göre çok önemli bir artış göstermektedir ( $p < 0.001$ ).

TABLO VI - DEJENERATİF, DEMİYELİNİZAN HASTALIKLAR VE KONTROL GRUBU OLGULARDA SERUM VE BOS'DA  
PI TİP I HÖ ANTİKOR TİTRELERİ\*

Antikor Titresi:	<1/20	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320
<b>1. SSPE</b>						
a. Serum (n = 17)	13 (76.47)	3 (17.65)	1 ( 5.88)	-	-	-
b. BOS (n = 16)	16 (100.0)	-	-	-	-	-
<b>2. MS</b>						
a. Serum (n = 36)	16 (44.44)	8 (22.22)	7 (19.44)	5 (13.89)	-	-
b. BOS (n = 15)	15 (100.0)	-	-	-	-	-
<b>3. Parkinson Hastalığı</b>						
a. Serum (n = 42)	7 (16.67)	4 ( 9.52)	2 ( 4.76)	16 (38.10)	11 (26.19)	2 ( 4.76)
b. BOS (n = 12)	12 (100.0)	-	-	-	-	-
<b>4. ALS</b>						
a. Serum (n = 18)	7 (38.89)	5 (27.78)	6 (33.33)	-	-	-
b. BOS (n = 8)	7 (87.50)	1 (12.50)	-	-	-	-
<b>5. Kontrol</b>						
a. Serum (n = 50)	18 (36.00)	4 ( 8.00)	3 ( 6.00)	16 (32.00)	8 (16.00)	1 ( 2.00)
b. BOS (n = 14)	14 (100.0)	-	-	-	-	-

\* Parantez içindeki değerler % leri göstermektedir

TABLO VII - DEJENERATİF, DEMİYELİNİZAN HASTALIKLAR VE KONTROL GRUBU OLGULARDA PI TİP 1 HÖ ANTİKORLARININ SEROPOZİTİFLİK ORANININ YAŞ GRUPLARINA GÖRE DAĞILIMI\*

<u>Yaş Grubu (Yıl)</u>	<u>Toplam Serum Sayısı</u>	<u>PI tip 1 HÖ Antikorları</u>
1. SSPE		
6-10	10	2 (20.00)
11-20	7	2 (28.57)
2. MS		
11-20	7	4 (57.14)
21-30	19	10 (52.63)
31-40	20	6 (60.00)
3. Parkinson Hastalığı		
31-40	7	6 (85.71)
41-50	13	9 (69.23)
51-60	22	20 (90.91)
4. ALS		
51-60	11	7 (63.64)
61-70	7	4 (57.14)
5. Kontrol		
6-10	7	5 (71.43)
11-20	5	4 (80.00)
21-30	6	5 (83.33)
31-40	8	6 (75.00)
41-50	10	10 (100.0)
51-60	9	2 (22.22)
61-70	5	- (0.0)

\* Parantez içindeki değerler % leri göstermektedir

TABLO VIII - DEJENERATİF, DEMİYELİNİZAN HASTALIKLAR VE KONTROL GRUBU OLGULARDA HETEROFİL

ANTİKORLARIN DAĞILIMI\*

Antikor Titresi:	< 1/8	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
<b>1. SSPE</b>								
a. Serum (n=17)	-	2 (11.76)	5 (29.41)	8 (47.06)	2 (11.76)	-	-	-
b. BOS (n=16)	16 (100.0)	-	-	-	-	-	-	-
<b>2. MS</b>								
a. Serum (n=36)	5 (13.89)	12 (33.33)	7 (19.44)	9 (25.00)	3 (8.33)	-	-	-
b. BOS (n=15)	15 (100.0)	-	-	-	-	-	-	-
<b>3. Parkinson Hastalığı</b>								
a. Serum (n=41)	6 (14.29)	4 (9.52)	2 (4.76)	3 (7.14)	6 (14.29)	9 (21.43)	8 (19.05)	4 (9.52)
b. BOS (n=12)	12 (100.0)	-	-	-	-	-	-	-
<b>4. ALS</b>								
a. Serum (n=18)	1 (5.56)	1 (5.56)	3 (16.67)	1 (5.56)	3 (16.67)	4 (22.22)	5 (27.78)	-
b. BOS (n=8)	8 (100.0)	-	-	-	-	-	-	-
<b>5. Kontrol</b>								
a. Serum (n=50)	32 (64.00)	14 (28.00)	3 (6.00)	1 (2.00)	-	-	-	-
b. BOS (n=14)	14 (100.0)	-	-	-	-	-	-	-

\* Parantez içindeki değerler % leri göstermektedir

## TARTIŞMA

SSPE ve MS'un etyoloji ve patogeneğine ilişkin en geçerli teorilerden birisi, santral sinir sisteminde bir yavaş virus enfeksiyonu sonucunda geliştiğidir. Bu hastaların serum ve BOS'larında kızamık virusuna karşı antikorlarda artış saptanması (6,7), yine aynı olgularda santral sinir sisteminde oligoklonal IgG'nin lokal olarak yapıldığının gösterilmesi (34,71) bu teoriyi desteklemektedir.

SSPE nadir görülen bir hastalık olmasına rağmen, kızamık virusunun primer enfeksiyonundan sonra konakta hangi mekanizma ile latent kaldığı henüz açıklık kazanmamıştır. Ancak, önemli olan bulgu, genellikle SSPE'in 2 yaşına kadar doğal kızamık enfeksiyonu geçiren bireylerde görülmesidir. Bu da immün sistemin gelişmekte olduğu devrede kızamık virusu için latensiye yatkınlığı yansıtabilir. Hastalığın primer enfeksiyondan yıllar sonra nörolojik semptomlarla ortaya çıkması, virusun replikasyonunun yavaş ilerlemesini vurgulamaktadır. Viral RNA, nükleokapsidler ve diğer genetik ürünler yavaş yavaş birikip, viral genetik bilgi hücreden hücreye dendritik uzantılarla yayılmaktadır (72,73).

Kızamık virusu zarflı bir RNA virusudur. Tüm virusun

oluşabilmesi için hücreden tomurcuklanarak olgunlaşması gerekir. Bu nedenle hücre membranında bazı viral anti- jenlerin yerleştirilmesi söz konusudur. Bu özellik hücre membran yapısını konak için yabancılaştıran niteliktedir. Ancak SSPE'de virusun santral sinir sistemi hücrelerinde replike olurken hücre membran yapısını değiştirmesine rağmen tomurcuklanma olayına gitmediği sanılmaktadır. Bu da neden SSPE olgusundan izole edilen virusun M (membran) proteini içermediğini açıklamaktadır. Ancak virusun olgunlaşmamasına rağmen hücre membranında oluşturduğu anti- jenik değişiklik konak otoimmün cevabına ve demiyelinizasyona neden olmaktadır.

Çalışmamızda SSPE'li hastalarda serum ve BOS'larda kontrol grubu olgulara göre kızamık KB antikoru titrelerinin çok önemli derecede arttığına bulunması ve literatürdeki diğer çalışmalarla uyumluluk göstermesi (6,34), etyopatogenezde kızamık virusunun rol oynayabileceğine işaret etmektedir.

MS SSPE'den farklı olarak genellikle erişkinlerde görülen demiyelinizan bir hastalıktır. Literatürde MS etyopatogenezinde paramiksovirusun rol oynayabileceği üzerinde çalışmalar mevcut olup, özellikle kızamık virusuna karşı serum antikoru artışı kaydedilmektedir. Henüz MS olgularından virus izolasyonunun yapılamaması etyopatogenezde herhangi bir virusun kesin rol oynadığı hipotezini kısıtlamaktadır. Ancak artan titrede kızamık antikoru artışı dikkati bu virus üzerine çekmektedir. Çalışmamızda MS'lu hastaların serumlarında

ve BOS'larında yapılan antikor araştırması sonuçları Tablo I'de verilmiştir. Bu antikorlarda diğer nörolojik hastalıklar ve kontrol grubuna kıyasla önemli serum antikor titreleri kaydedilmiştir. BOS'da ise SSPE'dekinin aksine kızamık virusu antikorlarına rastlanamamıştır. Bu da literatürdeki mevcut bilgiler ile paralellik göstermektedir (7,47,50).

SSPE'li ve MS'lu hastalarda dikkati çeken diğer bir bulgu ise 0-2 yaş arasında geçirilmiş akut kızamık enfeksiyonu öyküsü yönünden kontrollerle arada önemli bir fark bulunmasıdır. Bu bulguda kızamık virusunun uzun yıllar sessiz kalıp daha sonra hücre içinde değişiklikler yapabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda Parkinsonlu hastaların serum ve BOS'larında kontrol grubuna göre HSV tip 1 antikorları çok önemli derecede artış göstermiştir. Bu bulgular viral bir etyolojiyi desteklemekle beraber birkaç şekilde yorumlanabilir:

1. Bu bulgumuz HSV tip 1'in Parkinson hastalığı ile etyopatogenetik olarak ilişkili olduğunu gösterebilir. Nitekim 1975'den itibaren HSV'nun trigeminal ganglionda sinir hücrelerinde latent kalma yeteneğine sahip olduğu bilinmektedir (74). Lyche ve arkadaşları farelerde yapmış oldukları bir çalışmada HSV'nun özellikle beyin dopamin metabolizmasını bozduğuna dikkati çekmişlerdir (75,76). Nitekim Parkinsonizmde de ana biyokimyasal bozukluk dopamin metabolizmasındadır.

2. Parkinson hastalığında saptanan antikor cevabındaki artış, hastalığın etyolojisi ile direkt ilişkili olmadığı halde, Parkinson hastalığında rolü olan bir faktör sonucunda da görülebilir. Bu cins olaylar konakçının immün cevabının ayarlanması ile ilişkili olabileceği gibi, konakçının belli bir hastalığa karşı olan eğilimi ile, yani HLA doku gruplarıyla bağlantılı olabilir (77).

ALS'li hastaların serumlarında kontrol grubuna göre hem 1/4 ve üzerinde, hem de 1/8 ve üzerindeki HSV tip 1 KB antikorlarında önemli derecede artış bulunurken, BOS'lerinde kontrol grubuna göre antikor titreleri farklılık göstermemiştir. ALS'li hastalarda yapılan çalışmalarda çeşitli viral antikorlar aranmış olmasına karşılık, herpesviruslarla ilgili bir araştırmaya literatürde rastlanmamıştır (60). ALS'li hastalarda viral çalışmalar enteroviruslar üzerine yoğunlaşmış olmakla beraber gelişmiş sonuçlara da rastlanmaktadır (60,62). Çalışmamızda kullandığımız serum sayısı az olmasına rağmen, Parkinsonlu hastalarda bulunan yüksek titrelerde antikor saptanan ALS'li hastalar mevcuttur. Bu konuya bir yorum getirebilmek için daha fazla serum örneği ile çalışmaya gereksinim vardır.

Dejeneratif ve demiyelinizan hastalıkların etyolojisinde zarflı virusların rol oynayabileceği düşünülürken elektron mikroskopik çalışmalar ile paramikso grubuna benzer virusların mevcudiyeti dikkati çekmiştir. Bu nedenle kızamık virusu gibi paramiksovirus grubunda yer alan parainfluenza viruslarının da etyopatogenezde rol oyna-

yıp oynamadığını incelemek amacıyla çalışmamızda serum ve BOS örneklerinde PI tip 1 antikörleri aranmıştır. Sonuçta HÖ antikörlerinin dejeneratif ve demiyelinizan hastalıklarda kontrollere göre önemli derecede artmadığı saptanmıştır. Bu da etyopatogeneizde PI viruslarının önemli olmadığı sonucunu vermektedir.

Parkinsonlu ve ALS'li hastalarda kontrol grubuna oranla heterofil antikörlerin yüksek bulunması etyolojide latent bir virusun varlığını düşündürebilir. Bu virus çalışmamızda da serolojik olarak gösterildiği gibi HSV tip 1 virusu olabilir. Öte yandan EB virusu gibi toplumda yaygın olarak bulunan ve latent bir enfeksiyon oluşturan virusun meydana getirdiği enfeksiyöz mononükleozda da heterofil antikör düzeyi artmaktadır (5). Görüldüğü üzere, aktive olan latent enfeksiyonlarda, henüz mekanizmasını bilemediğimiz heterofil antikörler saptanabilmektedir. Parkinson ve MS hastalıklarının etyolojisinde HSV düşünüldüğünde, latent enfeksiyon yapan HSV tip 1 virusuna karşı yüksek titrede antikörlerin yanısıra heterofil antikörlerin saptanması ilgi çekicidir. Literatürde bu grup hastalarda heterofil antikörleri araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızda elde edilen sonuçlar literatürle uyumluluk göstermesine rağmen, halâ bazı dejeneratif ve demiyelinizan hastalıklarda kesin bir etyolojik sonuca varmak mümkün olmamaktadır. Bunun nedenleri içinde hastalıkların nadir görülmesi, mortalite oranının yüksek olması ve ko-

nakta bu hastalıklara yatkınlık yaratan genetik faktörlerin tam anlamıyla saptanmamış olması sayılabilir. Daha fazla hasta sayısı ve çok yönlü yapılacak gelecekteki çalışmaların konuyu mevcut bilgilerimizin ışığında açıklığa kavuşturacağını ümit etmekteyiz.

## ÖZET

1980-1984 yılları arasında, yaşları 6-67 arasında değişen, Hacettepe ve Gazi Tıp Fakülteleri Nöroloji Kliniklerine başvuran dejeneratif ve demiyelinizan hastalığı olan bireylerden sağlanan serum ve BOS örneklerinde, virusların etyopatogenetik rolü yönünden serolojik çalışmalar yapılmıştır.

Çalışmada SSPE ve MS'lu hastalarda kızamık virüsüne karşı artan titrelerde antikorlar saptanmış, ve literatürdeki mevcut bulgularla karşılaştırılarak tartışılmıştır.

Parkinsonlu hastalarda HSV tip 1 antikorlarının önemli derecede artmış olması, bu konuya çalışmamızla birlikte yeni bir ufuk getirmektedir. Çalışmamızda, Parkinsonlu hastalarda özellikle heterofil antikorların saptanması konuya yeni bir katkı niteliğindedir.

ALS'li hastalarda HSV tip 1 ve heterofil antikorların yüksek bulunmasına rağmen, çalışmada kullanılan serum adedinin az oluşu bu konuda tam bir yorum yapmamızı engellemektedir.

## KAYNAKLAR

1. Katz, M., Koprowski, H.: Slow virus encephalopathies. Scientific Approaches to Clinical Neurology; Goldensohn, E.S., Appel, S.H. (eds.). Philadelphia, Lea and Febiger, Cilt 1, Bölüm 27, 1977, s.407-414.
2. Sutton, R.N.P.: Slow viruses and chronic disease of the central nervous system. Postgrad. Med. J. 55:143-149, 1979.
3. Gajdusek, D.C.: Unconventional viruses and the origin and disappearance of Kuru. Science 197:943-960, 1977.
4. Beck, E., Daniel, P.M., Matthews, W.B., ve ark.: Creutzfeldt-Jacob disease: the neuropathology of a transmission experiment. Brain 92:699, 1969.
5. Akman, M., Gülmezoğlu, E.: Tıbbi Mikrobiyoloji. 3.Baskı, Hacettepe Üniversitesi Yayınları/A-15, 1980, s.678-682, 704-712, 752-759, 585-591.
6. Mehta, P.D., Kane, A., Thormen, H.: Quantitation of measles-virus-specific immunoglobulins in serum, CSF and brain extracts from patients with subacute sclerosing panencephalitis. J.Immunol. 118:2254-2261, 1977.
7. Norby, E., Lin, H., Olsson, J.E. ve ark.: Viruses in cerebrospinal fluid and serum samples from patients with multiple sclerosis. Infect.Immun. 10:688-694, 1974.
8. Dubois-Daleq, M.: Pathology of measles virus infection of the nervous system: Comparison with multiple sclerosis. Int.Rev.Exp.Pathol. 119:121-130, 1979.

9. İrkeç, C., Jedary-Saify, C., Ustaçelebi, Ş. ve ark.: Multipl sklerozda kızamık virusu antikorlarının insidansı. XX. Türk Mikrobiyoloji Kongre Kitabı (Baskıda).
10. Weil, M.L., Perrin, L., Buimovici-Klein, E. ve ark.: Immunologic abnormalities associated with chronic progressive panencephalitis due to congenital infection with rubella virus. Clin. Res. 24:185, 1976.
11. Marttila, R.J., Halonen, P. ve ark.: Influenza virus antibodies in Parkinsonism: Comparison of postencephalitic and idiopathic Parkinson patients and matched controls. Arch. Neurol. 34:99, 1977.
12. Marttila, R.J., Rinne, N.K.: Herpes virus antibodies in patients with Parkinson's disease. J. Neurol. Sci. 35:375, 1978.
13. İrkeç, C., Ustaçelebi, Ş.: Parkinsonizmde viral antikörlerin insidansı. Türk Viroloji Dergisi (yayında).
14. Padgett, B.L., Walker, D.L., Zurkein, G.M. ve ark.: Cultivation of papova like virus from human brain with progressive multifocal leukoencephalopathy. Lancet I:1257-1260, 1971.
15. Lehrich, J., Oger, J., Arnason, B.: Neutralizing antibodies to poliovirus and mumps virus in amyotrophic lateral sclerosis. J. Neurol. Sci. 23:537, 1974.
16. Agnarsdottir, G.: Subacute sclerosing panencephalitis. Recent Advances in Clinical Virology: Waterson, A.P. (ed.). Edinburgh, Churchill and Livingstone, 1977, s.21-49.
17. Weiner, L.P., Herndon, R.M., Naraya, O. ve ark.: Isolation of virus related SV<sub>40</sub> from patients with progressive multifocal leukoencephalopathy. New Eng. J. Med. 286:385-390, 1972.
18. Cremer, N.E., Oshiro, L.S., Weil, M.L. ve ark.: Isolation of rubella virus from brain in chronic progressive panencephalitis. J. Gen. Virol. 28:143-153, 1975.

19. Meulen, V. ter, Hall, W.W.: Slow virus infections of the nervous system: virological, immunological and pathogenetic considerations. *J. Gen. Virol.* 41:1-25, 1978.
20. Gajdusek, D.C., Gibbs, C.G.: Slow virus infections of the nervous system and the laboratories of slow, latent and temperate virus infections. *The Nervous System: Tower, D.B. (ed.). Cilt 2, The Clinical Neurosciences. New York, Raven Press, 1975.*
21. Sever, J.L., Zeman, W.: Serological studies of measles and subacute sclerosing panencephalitis. *Neurology (Minneapolis.)* 18:95-97, 1968.
22. Ammitzbou, T., Clausen, J., Fog, T.: Oligoclonal IgG and measles antibody in CSF of multiple sclerosis patients. *Acta Neurol. Scand.* 56:153-158, 1977.
23. Frazer, K.B.: Multiple sclerosis: A virus disease. *Br. Med. Bull.* 33:34-39, 1977.
24. Horta-Barbosa, L., Fucullo, D.A., London, W.T. ve ark.: Isolation of measles virus from brain cell cultures of five patients with subacute sclerosing panencephalitis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 132:272-277, 1969.
25. Meulen, V. ter, Katz, M., Köchell, Y.M., ve ark.: Subacute sclerosing panencephalitis: In vitro characterization of viruses isolated from brain cells in culture. *J. Infect. Dis.* 126:11-17, 1972.
26. Raine, C.S., Powers, J.M., Suzuki, K.: Acute multiple sclerosis: Confirmation of paramyxovirus-like intranuclear inclusions. *Arch. Neurol.* 30:39-46, 1974.
27. Tanaka, R., Iwasaki, Y., Koprowski, H.: Paramyxovirus-like structures in brains of multiple sclerosis patients. *Arch. Neurol.* 32:80-83, 1975.
28. Gilroy, J., Meyer, J.S.: Demyelinating diseases of the nervous system. *Medical Neurology, Bölüm 3, New York, Mc Millan Pub. Com., 1979, s.153.*

29. Bray, P.F., Bloomer, L.C., Salmon, V.C. ve ark.: Epstein-Barr virus infection and antibody synthesis in patients with multiple sclerosis. Arch.Neurol. 40:406-408, 1983.
30. Gudnadottir, M., Helgadottir, H., Bjarnason, O. ve ark.: Virus isolated from the brain of a patient with multiple sclerosis. Exp.Neurol. 9:85-95, 1964.
31. Nahmias, A.J., Dowdle, W.R.: Antigenic and biologic differences in herpes virus hominis. Progr.Med.Virol. 10:110-159, 1968.
32. Norby, E.: Viral antibodies in multiple sclerosis. Progr.Med.Virol. 24:1-39, 1978.
33. Martin, J.R.: Herpes simplex virus types 1 and 2 and multiple sclerosis. Lancet 10:777-781, 1981.
34. Vandvik, B., Norby, E.: Oligoclonal IgG antibody response in the central nervous system to different measles virus antigen in subacute sclerosing panencephalitis. Proceed.Nat.Acad.Sci.USA 70:1060-1063, 1973.
35. Dayan, A.D., Stokes, M.I.: Immunofluorescent detection of measles-virus antigens in cerebrospinal-fluid cells in subacute sclerosing panencephalitis. Lancet I:891-892, 1971.
36. Dayan, A.D., Stokes, M.I.: Immune complexes and visceral deposits of measles antigens in subacute sclerosing panencephalitis. Br.Med.J. 2:374-376, 1972.
37. Teller-Nagel, I., Harter, D.H.: Subacute sclerosing leuco-encephalitis: ultra-structure of intranuclear and intracytoplasmic inclusions. Science 154:899-901, 1966.
38. Hall, W.W., Muelen, V.ter : RNA homology between subacute sclerosing panencephalitis and measles viruses. Nature 264:474, 1976.
39. Wolinsky, J.S., Berg, B.O., Maitland, C.J.: Progressive rubella panencephalitis. Arch.Neurol. 33:722, 1976.
40. Richardson, E.P.: Progressive multifocal leukoencephalopathy. New Eng.J.Med. 265:815-823, 1961.

41. Cavanagh, J.B., Greenbaum, D., Marshal, A.H.E. ve ark.: Cerebral demyelination associated with disorders of the reticulo-endothelial system. *Lancet* 11:524-529, 1959.
42. Silverman, L., Rubinstein, L.J.: Electron microscopic observations on a case of progressive multifocal leuco-encephalopathy. *Acta Neuropathol.* 5:215-224, 1965.
43. Adams, R.D., Victor, M.: *Principles of Neurology*. 2nd ed., New York, McGraw Hill Book Company, 1981, s.651, 807, 821.
44. Cathala, F., Brown, P.: The possible viral aetiology of disseminated sclerosis. *J.Clin.Pathol. Suppl.* 6, 25:141-151, 1972.
45. Whitaker, J.N., Hermann, K.Z., Rogentine, G.N. ve ark.: Immunogenetic analysis and serum viral antibody titers in multiple sclerosis. *Arch.Neurol.* 33:399-403, 1976.
46. Colby, S.P., Shermota, W.A., Bain, B. ve ark.: Cellular hypersensitivity in attacks of multiple sclerosis. 1. A comparative study of migration inhibitory factor production and lymphoblastic transformation in response to myelin basic protein in multiple sclerosis. *Neurology (Minneap.)* 27:132-139, 1977.
47. Nordal, H.J., Proland, S.S., Vandvic, B. ve ark.: Measles virus induced migration inhibition in vitro of leukocytes from patients with multiple sclerosis. *Scand. J.Immunol.* 5:587-591, 1976.
48. Jersild, C., Dupont, B., Fog, T. ve ark.: Histocompatibility determinants in multiple sclerosis. *Transplant.Rev.* 22:148-163, 1975.
49. Paty, D.W., Furesz, J., Boucher, D.W. ve ark.: Measles antibodies as related to HLA types in multiple sclerosis. *Neurology (Minneap.)* 26:651-655, 1976.
50. Levy, N., Auerbach, P.S., Hayes, E.C.: A blood test for multiple sclerosis based on the adherence of lymphocytes to measles infected cells. *N.Eng.J.Med.* 204:1423-1427, 1976.

51. Utermohlen, U., Zabriskie, J.B.: A suppression of cellular immunity in patients with multiple sclerosis. *J. Exp. Med.* 138:1591-1596, 1973.
52. Ciongol, A.K., Lisak, R.D., Zweiman, B. ve ark.: In vitro cellular hyperresponsiveness in multiple sclerosis patients to a purified measles virus nuclear core and to other viral antigens. *J. Neurol. Sci.* 28:331-338, 1976.
53. Weiner, H.L., Cherry, J., Mantosh, K.: Decreased lymphocyte transformation to vaccinia virus in multiple sclerosis. *Neurology* 28:415-420, 1978.
54. Duvoisin, R.C., Yahr, M.D.: Encephalitis and Parkinsonism. *Arch. Neurol.* 12:227, 1965.
55. Elizan, T.S., Hirano, A. ve ark.: Amyotrophic lateral sclerosis and Parkinsonism-dementia complex of Guam. *Arch. Neurol.* 14:356, 1968.
56. Eadie, M.S., Sutherland, V.M.: Encephalitis in the etiology of Parkinsonism in Australia. *Arch. Neurol.* 12:240, 1965.
57. Poser, C.M., Huntley, C.V.: Postencephalitic Parkinsonism. *Acta Neurol. Scand.* 45:199, 1969.
58. Gamboa, E.T., Wolf, A.: Influenza virus antigen in postencephalitic Parkinsonian brain: Detection by immunofluorescence. *Arch. Neurol.* 31:228, 1974.
59. Bradley, W.G., Krasin, F.: A new hypothesis of the etiology of amyotrophic lateral sclerosis. The DNA hypothesis. *Arch. Neurol.* 39:677-680, 1982.
60. Bartfeld, H., Dham, C., Donnenfeld, H. ve ark.: Immunological profile of amyotrophic lateral sclerosis patients and their cell-mediated immune responses to viral and CNS antigens. *Clin. Exp. Immunol.* 48:137-147, 1982.
61. Campbell, A., Williams, E., Pearce, J.: Late motor neuron degeneration following poliomyelitis. *J. Neurology* 19:1101, 1969.

62. Kurent, J., Brooks, B., Madden, D. ve ark.: CSF viral antibodies evaluation in ALS and late post-poliomyelitis progressive muscular atrophy. Arch.Neurol. 36:269,1979.
63. Kohne, D.E., Gibbs, C.J., White, L. ve ark.: Virus detection by nucleic acid hybridization: Examination of normal and ALS tissues for the presence of poliovirus. J.Gen.Virol. 56:223-233,1981.
64. Poskanzer, D., Canter, H., Kaplan, G.: The frequency of preceding poliomyelitis in amyotrophic lateral sclerosis. Motor Neuron Diseases: Research on Amyotrophic Lateral Sclerosis and Related Disorders: Norris, F., Kurland, L. (eds.). New York, Grune and Stratton, 1969, s.286-289.
65. Kott, E., Livini, E., Zamir, R. ve ark.: Cell mediated immunity to polio and HLA antigens in amyotrophic lateral sclerosis. Neurology 29:1040,1979.
66. Pena, C.E.: Virus-like particles in amyotrophic lateral sclerosis: Electron microscopical study of a case. Ann.Neurol. 1:290-297,1977.
67. Oshiro, L.S., Cremer, N.E.: Virus-like particles in muscle from a patient with amyotrophic lateral sclerosis. Neurology (Minneap.) 26:57-60,1976.
68. Pertschuk, L.P., Cook, A.W.: Jejunal immunopathology in amyotrophic lateral sclerosis and multiple sclerosis. Identification of viral antigens by immunofluorescence. Lancet 1:1119-1123,1977.
69. Grist, N.R., Bell, E.J.: Diagnostic Methods in Clinical Virology. 3rd ed., Oxford, Blackwell Sci.Pub., 1979.

70. Sümbüloğlu, K.: Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik. Ankara, Matis Yayınları, 1978.
71. Link, H., Muller, R.: Immunoglobulins in multiple sclerosis and infections of the nervous system. Arch. Neurol. 28:326-344, 1971.
72. Haase, A.T., Swoveland, P., Stowring, L. ve ark.: Measles virus genome in infections of the central nervous system. J. Infect. Dis. 144:154-160, 1981.
73. Iwasaki, Y., Koprowski, H.: Cell to cell transmission of virus in the central nervous system. I. Subacute sclerosing panencephalitis. Lab. Invest. 31:187-196, 1974.
74. Stevens, J.G.: Latent Herpes simplex virus and the nervous system. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 70:31-50, 1975.
75. Lyche, E., Modigh, K., Roos, B.E.: The monoamine metabolism in viral encephalitides of the mouse. I. Virological and biochemical results. Brain Res. 23:235-246, 1970.
76. Lyche, E., Roos, B.E.: The monoamine metabolism in viral encephalitides of the mouse. II. Turnover of monoamines in mice infected with Herpes simplex virus. Brain Res. 44:603-613, 1972.
77. Lehrich, V.R., Arnason, B.G.W.: Histocompatibility types and viral antibodies. Arch. Neurol. 33:404-405, 1976.