

Spontan Düşük Materyallerinde Herpes Simpieks Tip 2 ve Toksoplazma Gondii Dağılımı (İmmünohistokimyasal Çalışma)

TOXOPLASMA GONDII AND HERPES SIMPLEX TYPE 2 IN SPONTANEOUS ABORTIONS
'AN IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY)

Figen ÖZTÜRK*, Yüksel OKUMUŞ*, Turhan OKTEN*, Mehmet TAYYAR**

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi 'Patoloji ABD, "Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD

ÖZET

Amaç: Sebepi bilinmeyen erken dönem düşüklerinde etyolojik ajan olarak toksoplazma gondii ve herpes simpieks tip 2'nin plasenta ve desiduada immünohistokimyasal olarak araştırılması.

Çalışmanın Yapıldığı Yer: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji ABD. Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD

Materyal ve Metod: Patoloji ABD'na gönderilen düşüklere ait plasenta ve desidual dokulardan rastgele seçilen 40 tanesi toksoplazma gondii ve herpes simpieks tip 2 için immünohistokimyasal olarak boyandı. Bu vakalardan 7 tanesinde de ELİSA yöntemiyle serumda toksoplazma gondii ve herpes simpieks tip 2 IgG ve IgM antikorları araştırıldı. Kontrol olarak normal doğumlara ait 10 plasenta kullanıldı.

Bulgular: Toksoplazma gondii düşük materyallerinin %20'sinde pozitif boyanırken bu oran Herpes simpieks tip 2 de %27.8 idi. Kontrol grubunda her ikisi için de pozitif boyanma izlenmedi. Serolojik olarak toksoplazma gondii IgG (+) olan vakaların %75'inde, herpes simpieks tip 2 IgG (+) olanların ise %71.4'ünde dokuda da pozitif boyanma elde edildi.

Sonuç: Düşük etyolojisi araştırırken serolojik bulgularla birlikte dokuda immünohistokimyasal çalışma yaparak, ışık mikroskobu ile sebepi bulunamayan vakalarda olumlu sonuç alınabilir.

Anahtar Kelimeler: Toksoplazma gondii, Herpes simpieks tip 2, Spontan düşük, immünohistokimya

T Klin Jinekolo Obst 1994, 4:291-295

SUMMARY

Objective: To identify the role of toxoplasma gondii and herpes simplex type 2 in placenta and decidua of spontaneous abortions with unknown aetiology by using immunohistochemistry.

Institution: Erciyes University Faculty of Medicine, Department of Pathology, Department of Obstetrics and Gynecology.

Materials and Methods: 40 placenta and decidua of spontaneous abortions and 10 normal deliveries were stained immunohistochemically for toxoplasma gondii and herpes simplex type 2. 7 of these cases were also examined serologically with ELISA for IgG and IgM.

Findings: Toxoplasma gondii was positive at 20% of spontaneous abortion materials while herpes simplex type 2 was positive 27% of them. They were all negative at normal delivery cases. Tissue positivity was 75% respectively, serologically toxoplasma gondii and herpes simplex type 2 IgG (+) cases.

Results: We think it is favorable to research serology and placental anti-herpes simplex type 2 and anti-toxoplasma gondii polyclonal antibodies at same time to find out the aetiology of abortion when we could not find out anything with light microscopy.

Key Words: Toxoplasma gondii, Herpes simplex type 2, Spontan abortions, Immunohistochemistry

Anatolian J Gynecol Obst 1994; 4:291-295

Toksoplazma gondii (T. gondii) ve Herpes simpieks tip 2 (HSV 2) enfeksiyonları spontan düşüklere, intrauterin ölümler, erken doğum ve sekelli çocuk doğmasından sorumlu olan enfeksiyonlardan yalnızca

ikisidir (1-4). Gebeliğin erken devrelerinde meydana gelen spontan düşüklere %50'sinden kromozomal anomaliler sorumlu tutulmakla birlikte (5) geri kalanlarda etyoloji her zaman tespit edilememektedir. Ülkemiz gibi hijyen şartlarının çok iyi olmadığı ve paraziter enfeksiyonların yeterince eradike edilemediği ülkelerde T. gondii enfeksiyonuna sık rastlanılmaktadır (2-4). Aynı şekilde HSV 2 enfeksiyonu gelişmiş ülkelerde bile giderek artan sıklıkta gebelik döneminden başlayan düşüklere, ölü doğum ve sakat doğumların oluşmasına yol açmaktadır (4,6,7). Tek-

Geliş Tarihi: 29.07.1994

Kabul Tarihi: 10.10.1994

Yazışma Adresi: Figen ÖZTÜRK
Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji ABD
Melikgazi / KAYSERİ

Anatolian J Gynecol Obst 1994, 4

rarlayan düşüklerde mevcut serolojik yöntemlerle ya da plasentanın hematoksilen-eosin (HE) ile boyanması ile incelemede etyoloji her zaman saptanamamaktadır. Buna karşılık immünohistokimyasal (İHK) yöntemler plasenta ve desidua dokusunda T. gondii ya da HSV'ye karşı spesifik antijenleri gösterebilmektedir (6-8).

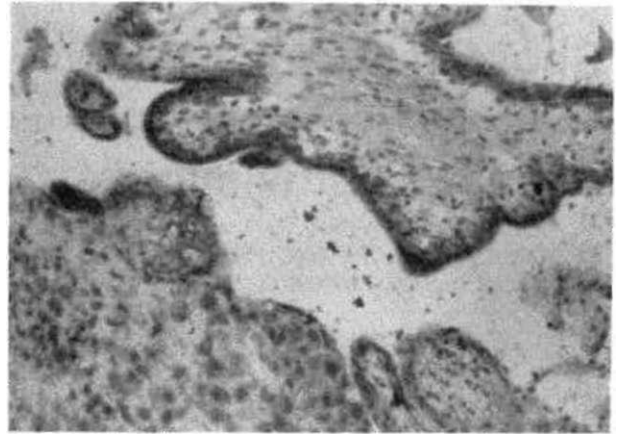
Biz bu çalışmamızda serolojik ve HE boyamasında ışık mikroskopuyla gösteremediğimiz spontan ve habitüel düşüklerde etyolojik olarak T. gondii ve HSV 2 virüsünün yerini değerlendirmek için parafin kesitlerde İHK yöntemleri kullanmayı amaçladık. Bazı hastalarda elde ettiğimiz serolojik değerlerle dokulardaki İHK olarak pozitif boyanma oranını karşılaştırarak doku ve serolojik değerler arasındaki ilgiyi araştırdık.

GEREÇ VE YÖNTEM

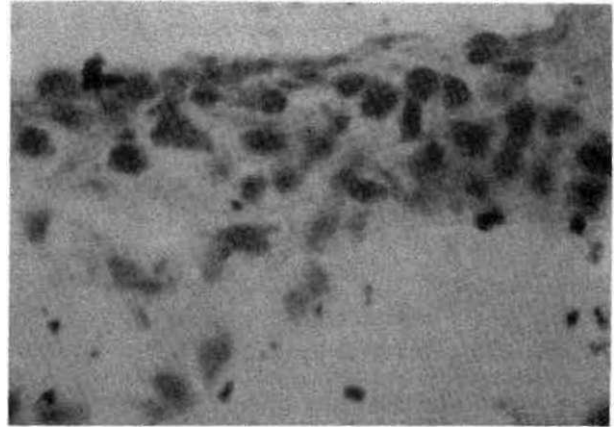
Bu çalışmada Erclyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'na gönderilen spontan düşüklere ait küretaj materyallerinin ve normal doğumlara ait plasenta dokularının parafin bloklarından hazırlanan kesitler kullanıldı. Bu amaçla rastgele seçilen 40 adet düşük materyaline ait plasenta ve desidua değerlendirilirken kontrol olarak yine rastgele seçilen normal doğumlara ait 10 adet plasenta kullanıldı. Parafin bloklardan hazırlanan kesitlere avidin-biotin peroksidaz yöntemi ile İHK olarak T. gondii ve HSV 2 poliklonal antikörleri (Biogenex Katalog no: Hepres Simplex II AR085-5FS. Toxoplasma Gondii AR125-5R.) boyandı. Her bir spesmenden en az iki kesit hazırlandı. HSV 2 için plasenta dokularında subamniyonik koryon, Hofbauer hücreleri ve umbilikal kordda görülen sitoplazmik boyanma pozitif olarak değerlendirildi. Endotelial hücreler ve nükleer boyanmalar negatif olarak değerlendirildi (7). T. gondii içinse desidua ve koryon villuslarında boyanma pozitif kabul edildi. Düşük yapan vakaların 7 tanesinde serumda ELİSA yöntemi ile T. gondii ve HSV 2 IgG ve IgM antikörleri araştırıldı.

BULGULAR

Klinik olarak spontan düşük yapan kadınların yaşları 18-40 arasında değişiyordu (ortalama 29.7). Kontrol grubunda yaşları ise 20-35 arasındaydı (ortalama 27.1). Çalışma grubunu oluşturan 40 vakadan 11'inde (%27.8) HSV 2 pozitif İken (Şekil 1), 29'unda (%72.2) negatif olarak bulundu. T. gondii ise 40 vakanın 8'inde (%20) pozitif (Şekil 2). Geri kalan 32 vakada (%80) negatif boyanma sözkonusuydu. Kontrol olarak kabul edilen diğer gruptaki normal doğumlara ait vakaların plasentaları hem T. gondii hem de HSV 2 için tamamında negatif (%100) bulundu (Tablo 1).



Şekil 1. HSV 2 pozitif plasenta dokusu (immünoperoxidaz x100)
Figure 1. HSV 2 positivity in placental tissue (immunoperoxidase x100)



Şekil 2. T. gondii pozitif plasenta dokusu (immünoperoxidaz x200)
Figure 2. T. gondii positivity in placental tissue (immunoperoxidase x200)

Serumda ELİSA yöntemiyle T. gondii ve HSV 2 antikörleri araştırılan vakaların sonuçları ise Tablo 2 ve 3'te özetlenmiştir.

TARTIŞMA

Gebeliğin erken sonlanmasında çok çeşitli etyolojik faktörler bulunmaktadır. Bunların %50'sinden kromozomal anomaliler, %10'undan bakteriyel enfeksiyonlar ile daha nadir olarak CMV ve klamidya sorumludur. %40 vakada ise etyoloji belirlenmemektedir (5-7). Ancak çeşitli araştırmalarda bunların büyük bir kısmının kromozomal hasar oluşturan ve subamniyonik yerleşim gösteren HSV 2 ve T. gondii tarafından oluşturulduğu

Tablo 1. 40 spontan düşük materyali ile 10 normal doğuma ait plasenta dokusunda HSV 2 ve T. gondii'nin İHK olarak değerlendirilmesi.

Table 1. Evaluation of HSV 2 and T. gondii by immunohistochemistry in 40 spontaneous abortion materials and 10 placentas of normal deliveries.

	Hasta (n:40) pozitif boyanma	Kontrol (n:10) pozitif boyanma	t	p
HSV 2	11 (%27.8)	0(%0)	1.90	>0.05
T.gondii	8 (%20)	0(%0)	1.54	>0.05

Tablo 2. Spontan düşük yapan vakaların serolojik bulguları ile doku bulgularının karşılaştırılması (HSV 2).

Table 2. Comparison of tissue and serologic findings of spontaneous abortion cases (HSV 2).

Vaka Sayısı (n:7)	Serum		Doku
	IgG	IgM	
1	+	-	+
2	+	-	-
3	+	-	+
4	+	-	+
5	+	-	+
6	+	-	-
7	+	+	+

Tablo 3. Spontan düşük yapan vakaların serolojik bulguları ile doku bulgularının karşılaştırılması (T. gondii).

Table 3. Comparison of tissue and serologic findings of spontaneous abortion cases (T. gondii)

Vaka sayısı (n:7)	Serum		Doku
	IgG	IgM	
1	+	-	+
2	+	-	+
3	-	-	+
4	+	-	+
5	+	-	+
6	+	-	+
7	-	-	-

rapor edilmiştir (1,4,7,9,10). Dubey ve arkadaşlarının 586 ölü fetusun vücut sıvıları ve serumlarının incelenmesiyle yaptıkları bir çalışmada; % 12.6 oranında toksoplazmozis, %15.2 kampilobakteriyoz, %12.8 klam yo* %26 karışık enfeksiyon tesbit edilirken %6.3'ünde en-

feksiyon dışı nedenlerin sorumlu olduğu görülmüştür. %27 vakada ise herhangi bir düşük sebebi bulunamamıştır (11).

Düşük materyallerinin patoloji laboratuvarında rutin doku takibinden sonra ışık mikroskobu ile incelenmesinde etyolojiye yönelik çok fazla bulgu elde edilememektedir (6,7,12,13). Zavala-Valesquez ve arkadaşlarının incelediği 100 vakalık bir düşük serisinde tüm çalışma grubunun %47'sinde Sabin-Feldman boya testi ile serumda antikor tespit edilirken immünofloresans tekniği ile bunların yalnızca %2'sinde desidua ve koryonik villuslarda parazit bulunmuştur. Bir vakada ise farelere inokulasyon yoluyla parazit izole edilebilmiştir (14). Yine, seropozitif toksoplazmozisli hastaların plasentaları séronégatif hastalarınkilerle ışık mikroskobunda karşılaştırıldığında bunların plasentalarında yalnızca büyüme defekti olduğu gözlenmiştir (12). Bir başka çalışmada ise düşük yapmış seropozitif toksoplazmozisli hastaların %63.3'ünde ışık mikroskobuyla plasenta tamamen normal bulunmuştur. Geri kalanların %9'unda ise pek çok patolojiye eşlik edebilen hidropik villuslar, %2'sinde kısmen hidrops, %6'sında enfarkt, %0.7'de ise kalsifikasyon gözlenmiştir (13). Tokso-plazmozisli plasentalardan en sık rastlanılan bulgu ise mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu gösteren kronik villitistir (5,13).

Konvansiyonel yöntemlerle elde edilen bu bulgularla etyolojiyi özgün olarak ayırmak çok güçtür. Tokso-plazmozis için aynı teşhis sıkıntılarının yaşandığı AIDS'li vakaların beyin otopsilerinde klasik yöntemlerle T. gondii organizmalarını göstermekte yetersiz kalınırken İHK yöntemlerle pozitif boyanma elde edilebilmektedir (8). Aynı şekilde HSV 1 ya da HSV 2 sebebiyle ölü doğan ya da neonatal dönemde ölen bebeklerin otopsilerinde İHK olarak HSV'yi göstermek mümkün olabilmektedir (6,7,15).

HSV enfeksiyonunda bulaşma genellikle assenden yolla amniyos ve plasentaya ulaşma şeklinde olur. Virus plasentadan geçerek fetusu enfekte edebilse de bu son derece nadirdir (4,15,16), çünkü plasental fagositik hücreler virusların büyümesine engel olurlar. Virus partikülleri enfeksiyonun alımından sonraki 4 saat içinde hasara uğrarlar (17). Buna karşılık gebelik döneminde artan prostaglandin sentezi ve lokal immün baskılanma virus üretimini kolaylaştırmaktadır (7). Tekrarlayan HSV enfeksiyonunda spontan düşük görülme oranı daha düşüktür (7,15) bu da muhtemelen amniyos sıvısındaki anneye ait anti-HSV antikorlarının miktarıyla ilişkilidir. Böylece enfeksiyon amniyokoryon seviyesinde durdurularak fetusa geçmesi önlenmektedir (7).

Çalışmamızda incelediğimiz düşük nedeniyle gönderilen 40 vaka ve rastgele seçilmiş normal doğuma ait 10 plasenta İHK olarak değerlendirildiğinde; düşüklerin %27.8'inde pozitif boyanma bulunurken bu oran kontrol grubunda %0'dır. Serolojik olarak IgG pozitif olan 7 vakanın 5'inde (%71.4) dokuda da pozitif boyanma izlendi. Serumda hem IgG hem de IgM'i pozitif olan bir vakanın plasentası da HSV tip 2 antikoruna ile boyandı.

Zeren ve arkadaşlarının Adana yöresinde yaptıkları İHK çalışmada HSV 2 dokuda %60 oranında bulunmuştur. Bizim çalışmamızda bu oran daha düşük olarak bulundu (%27.8). Boucher ve arkadaşlarının 1891 gebe kadın üzerinde enzim immünoassay ile yaptıkları serolojik çalışmada HSV 2'ye karşı spesifik antikor oranı %16.5 olarak bulunmuştur (18). Yine ülkemizde Dilmen ve arkadaşlarının 1772 gebe üzerinde yaptıkları serolojik çalışmada HSV 2'ye %86 oranında rastlanılmıştır. Düşüklerde ise IgG pozitiflik oranı %90.4'tür (2,4). Ancak bu vakaların takiplerinde herhangi bir problem ortaya çıkmadan normal miadında doğumla sonlanması, geçirilmiş enfeksiyonu desteklemektedir (2,4,18).

T. gondii, ABD de doğurganlık çağındaki kadınların (20-39 yaş) %25-45'inde görülür. Kronik enfekte kadınlarda düşük genellikle görülmez ve sağlam bebek doğururlar (10). Dilmen ve arkadaşlarının ülkemizde 1772 gebe üzerinde yaptıkları araştırmada gebelikten önceki dönemdeki kadınların %64'ünün T. gondii enfeksiyonu geçirdiği serolojik olarak tesbit edilmiştir (2,3). Bu vakaların 147'sinde spontan düşük olmuş ve hiçbirinde IgM pozitif bulunmamıştır (3). Bu sonuçlarla spontan düşüklerde T. gondii'nin önemli bir etyolojik ajan olmadığı sonucuna varılmıştır. Çalışmamızda incelediğimiz 40 plasentanın yalnızca %20'sinde İHK olarak T. gondii pozitif boyanırken kontrol grubunda bu oran %0'dır. Serumda T. gondii IgG'leri pozitif olan 4 vakanın 3'ünde (%75) dokuda da İHK pozitif boyanma elde edilirken serum IgG negatif olan 3 vakanın yalnızca birinde (%33) dokuda boyanma görüldü. Bu 7 vakanın tamamında IgM negatif idi.

Sonuç olarak T. gondii ve HSV 2 düşüklerde çok sık rastlanılan bir enfeksiyöz ajan olmamakla birlikte yine de ihmal edilmemesi gereken ajanlardır. Seroloji ile doku bulgularını karşılaştırdığımız sınırlı sayıda hastada IgG pozitifliği ile doku pozitifliği arasında paralellik tesbit ettik. Ancak IgM negatif olması sebebiyle hem T. gondii hem de HSV'de doku pozitifliğinin geçirilmiş enfeksiyonu da gösterebileceği akıldan çıkarılmamalıdır. HSV 2'de 1 vakada IgM pozitifliğinin dokuda da İHK olarak pozitif bulunması nedeniyle sebebi bilinmeyen spontan düşüklerde serolojik çalışmalarla birlikte doku-

da İHK olarak ajan araştırılmasının faydalı olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Zhao ZT. Relation between abnormal pregnancies and toxoplasma gondii infection. *Chung Hua Fu Chan Ko Tsa Chih* 1991; 26:78.
2. Dilmen U, Kaya S. İntrauterin enfeksiyonlar. *Yeni Tıp Dergisi* 1991; 8:82.
3. Dilmen U, Kaya IS, Çiftçi V, Göksin E. Gebelik, ölü doğum ve düşüklerde toksoplazmozis ve rubella. *Doğa* 1990; 14:294.
4. Kaya IS, Dilmen U, Göksin E, Laleli Y. Gebelik, ölü doğum ve düşüklerde CMV, herpes ve sfiliz enfeksiyonları. *Doğa* 1990; 14:285.
5. Rustution Dİ. Pathology of abortion. In: Haines and Taylor. *Obstetrical and Gynaecological Pathology*. Edit. Fox H, Churchill Livigston Inc, 1987:1127-19.
6. Zeren H, Varinli S, Zorludemir S, Alpaslan N, Toksöz L. Herpes simplex virus infection as an etiologic factor in spontan abortions. *Türk Patoloji Dergisi* 1991; 7:3.
7. Robb JA, Benirschke K, Barmayer R. Intrauterine latent herpes simplex virus infection I-Spontan abortion. *Human Pathol* 1986; 17:1196.
8. Luft B, Brooks GR, Conley FK, McCabe RE, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in patients with AIDS. *JAMA* 1984; 252:913.
9. Dubey JP. Toxoplasmosis, an overview. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1991; 22:88.
10. Krick JA, Remington JS. Toxoplasmosis in the adult, an overview. *N Eng J Med* 1978; 298:550.
11. Dubey JP, Sonn RJ, Hedstrom O, Snyder SP, Lassen ED. Serologic and histologic diagnosis of toxoplasmic abortions in sheep in Oregon. *J Am Vet Med Assoc* 1990; 196:291.
12. Eissa MH, Abdelsalam AM, Herez HA, Younis TA, Morsy TA. Placental villous maturation in patients with repeated abortions and chronic toxoplasmosis. *J Egypt Soc Parasitol* 1990; 20:661.
13. Abdelsalam AM, Gisca MH, Mangoud AM, Eissa TM, Morsy TA. Pathologic examination of the placenta in human cases of toxoplasmosis. *J Egypt Soc Parasitol* 1990; 20:549.
14. Zavala-Velazquez J, Guzman-Marin E, Barrera-Perez M, Rodriguez-Felix ME. Toxoplasmosis and abortion in patients at the O'Haran Hospital of Merida, Yucatan. *Salud Publica Med* 1989; 31:664.
15. Nicoll JR, Lowe S, Burton PA, Berry JP. Autopsy findings in two cases of neonatal herpes simplex in-

fection. Detection of virus by immunohistochemistry, in situ hybridization and the polimerase chain reaction. *Histopathology* 1994; 24:257.

16. Hutto C, Arvin A, Jacobs R, Steele R, Stapno S, Lynene R, et al. Intrauterine herpes simplex virus infection. *J Pediatr* 1987; 110:97.
17. Oliveira LH, Fonseca ME, De Bonis M. Placental phagocytic cells infected with herpes simplex type 2 and echovirus type 19: Virological and ultrastructural aspects. *Placenta* 1992; 13:405.
18. Boucher FD, Yasukawa LC, Bronzan RN, Hensleigh PA, Arwin AM, Prober CG. A prospective evaluation of primary genital herpes simplex virus type 2 infections acquired during pregnancy. *Pediatr Infect Dis J* 1990; 9:499.