

Glutamik Asit Dekarboksilaz Antikoru'nun Otoimmün Ensefalitteki Sıklığı ve Klinik Spektrumu

Prevalence Of Glutamic Acid Decarboxylase Antibody In Autoimmune Encephalitis And Its Clinical Spectrum

Canan Aysel Ulusoy, Selin Turan, Erdem Tüzün
İstanbul Üniversitesi, Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı

ÖZET

Glutamik asit dekarboksilaz antikoru (GAD-Ab)'nin otoimmün ensefalit hastalarında yüksek oranda saptanması hem tanıya yardımcı olmakta hem de bu hastalıkların patogeneğinde immünolojik mekanizmaların rol oynadığını düşündürmektedir. Olası otoimmün ensefalit tanılı 140 hastanın serum örneklerinde ELISA ile GAD antikoru incelendi ve stiff-man sendromu, serebellar dejenerasyonu, limbik ensefaliti ve epilepsisi olan 10 hastada (%17.5) bu antikor pozitif bulundu. Yüksek GAD-Ab düzeyleri limbik ensefaliti veya sadece epileptik nöbetleri olan hastalarda daha yüksek oranda saptandı. GAD-Ab pozitif hastalardan birinde akciğer kanseri gözlemlendi. Genel olarak, GAD-Ab olan hastalarda immünoterapiye tam veya kısmi yanıt saptandı. Otoimmün ensefalit hastalarında, GAD-Ab, kanser tarama endikasyonu ve immünoterapiye iyi yanıtın biyobelirteci olarak kullanılabilir.

ABSTRACT

High prevalence of autoantibodies against glutamic acid decarboxylase (GAD-Ab) in autoimmune encephalitis patients both helps diagnosis and suggests immune mediated pathogenesis in autoimmune syndromes. Serum GAD-antibodies were investigated with ELISA in 140 patients with suspected autoimmune encephalitis and found positive in 10 patients (%17.5) with stiff-man syndrome, cerebellar degeneration, limbic encephalitis and epilepsy. Raised GAD-Ab positivity clustered in a subgroup with limbic encephalitis or isolated seizures. A single patient with lung cancer also displayed GAD-Ab. Overall, GAD-Ab positive patients showed partial to full response to immunotherapy. In autoimmune encephalitis patients, GAD-Ab may be used as a biomarker for cancer screening indication and good response to immunotherapy.

Giriş

Glutamik asit dekarboksilaz enzimi (GAD) inhibitör bir nörotransmitter olan gamma-amino bütirik asit (GABA) yapımıyla ilişkilidir. GAD enzimine karşı gelişen otoantikörler çoğunlukla stiff-man sendromu ve varyantı hastalıklarla ilişkilidir. Fakat GAD'a karşı gelişmiş antikörlerin limbik ensefalit, hipokampal skleroz ve serebellar dejenerasyon gibi nörolojik hastalık ve sendromlarda da gösterilmesi GAD'ın pek çok farklı hastalığın patogeneğinde önemli rol oynadığını düşündürmektedir (1-3). İlginç olarak, GAD antikörleri hem supratentoryal hem de infratentoryal santral sinir sistemi tutulumunun görüldüğü hastalıklarda saptanabilmekle beraber, günümüze kadar bu iki farklı GAD-antikoru ilişkili sendrom grubunun karşılaştırıldığı kapsamlı bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmamızda, GAD antikörünün Türk otoimmün ensefalit hastalarında saptanma oranının ve ilişkili olduğu sendromların belirlenmesi ve farklı anatomik lokalizasyonların etkilendiği nörolojik hastalıkların klinik ve demografik özelliklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Hastalar

İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (DETAE) Sinirbilim Anabilim Dalı Nöroimmünoloji Laboratuvarına anti-GAD antikoru saptanması amacıyla gönderilen 140 hasta serum örneğine ait kayıtlar retrospektif olarak tarandı. Bunlardan anti-GAD antikoru pozitif olarak saptanan hastaların ayrıntılı klinik ve laboratuvar özelliklerine ulaşıldı. Bu hastaların yaş, cinsiyet, klinik tanı, SSS tutulum bölgesi, tümör ve immunoterapiye yanıt özellikleri kaydedildi. Serum örnekleri Ağustos 2011-Nisan 2012 tarihleri arasında toplandı. Bu çalışma İstanbul Üniversitesi İnsan Etik Kurul Komitesi tarafından onaylandı.

Tüm hastalarda kranyal ve/veya spinal manyetik rezonans incelemeleri yapılmış ve hastanın klinik bulgularını açıklayabilecek kitlesel bir lezyona rastlanmamıştı. Paraneoplastik sendrom tanısı için yapılan tüm beden bilgisayarlı tomografi incelemelerinde sadece bir hastada akciğer adenokanseri saptanmıştı. Ayrıca, ayırıcı tanıda düşünülebilecek vaskülitik ve romatolojik hastalıklara yönelik

yapılan serolojik incelemeler (anti-nükleer antikör, anti-DNA antikoru, kardiyolipin antikoru, tiroid antikoru) tüm olgularda negatif sonuçlanmıştı. Limbik ensefalit veya epilepsi tanısıyla başvuran hastalarda nörotropik virüslere yönelik incelemeler de negatif sonuçlanmıştı. Tüm olgularda yapılan paraneoplastik panel incelemesi (anti-Hu, Yo, CV2, Ma2, Ri, amfifizin, N-metil-D-aspartat reseptörü (NMDAR), "leucine-rich glioma inactivated 1" (LGI1), "contactin associated protein2" (CASPR2), alfa-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionik asit (AMPA) reseptörü, gama-aminobütirik asit B (GABAB) reseptörü antikörleri) negatifti. Beyin-omurilik sıvısı (BOS) inceleme sonuçlarına ulaşılabilen beş olgunun incelemelerinde yüksek lenfosit sayıları (>5), normal glikoz değerleri ve yüksek protein düzeyleri (>50mg/dl) saptandı. İki olguda (hasta no. 3 ve 4) oligoklonal bantlar (patern 3) ve yüksek IgG indeksi saptandı.

Olgulardan limbik ensefalit veya epilepsi tanısıyla izlenenler supratentoryal grubuna (6 olgu; hasta no. 5-10), serebellar dejenerasyon tanısı alanlar infratentoryal grubuna (3 olgu; hasta no. 1-3) alınırken limbik ensefalit ve stiff-man sendromu tanısı ile izlenen bir olgu (hasta no. 4) iki gruba da dahil edilmedi.

Tedavisi ile ilgili yeterli bilgiye ulaşılabilen beş olguda yüksek doz metilprednizolon (5x1 gr/gün) ve/veya intravenöz immunglobülin (IVIg) (total doz 2 gr/kg) tedavisi uygulandığı öğrenildi. Tedaviye tam yanıt Rankin skorunun 0'a düşmesi, kısmi yanıt ise Rankin skorunun 1'e düşmesi olarak tanımlandı.

Anti-GAD antikör tayini

Anti-GAD IgG antikör düzeyleri ELISA kitiyle (Euroimmun, Luebeck, Almanya) üretici firmanın önerdiği protokole göre ve uygun standartlar kullanılarak kantitatif olarak belirlendi. 10 IU/ml 'den yüksek değerler pozitif olarak kabul edildi.

İstatistiksel Yöntemler

Yaş ve antikör düzeyi değerleri Student's t-testi ile, cinsiyet ve tümör varlığı parametreleri ki kare yöntemi ile karşılaştırıldı. 0,05'ten küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

SONUÇLAR

Laboratuvarımıza tanı amacıyla gönderilen 140 hasta örneğinden 57'si (%40,7) otoimmün ensefalit hastalarına aitti. Bu hastalardan 47'sinde (%82,5) supratentoryal SSS tutulumu ile uyumlu bulgular, 10'unda (%17,5) infratentoryal SSS tutulumu ile uyumlu bulgular saptandı. Başlıca supratentoryal bulgular bellek kaybı, epileptik nöbetler, psikiyatrik bulgular ve davranış değişikliği idi. Başlıca infratentoryal bulgular ise serebellar sendrom bulguları, okülomotor fonksiyon bozuklukları, otonomik bulgular ve tüm ekstremitelerde katılık ve rijidite idi. Bunlardan 10'unda (otoimmün ensefalit tanısıyla laboratuvarımıza örneği gönderilen hastaların %17,5'inde, laboratuvarımıza örneği gönderilen tüm hastaların %0,7'sinde) anti-GAD antikoru pozitif saptandı.

Anti-GAD antikoru pozitif hastaların özellikleri

Olguların 3'ü erkek 7'si kadındı ve hastaların yaşları 3-77 arasında değişiyordu. Bu olguların 3'ünde infratentoryal (serebellar dejenerasyon), 6'sında supratentoryal (limbik

ensefalit veya epilepsi), 1'inde hem supratentoryal hem infratentoryal (limbik ensefalit ve stiff man sendromu) SSS tutulumu ile uyumlu bulgular vardı. Sadece bir serebellar dejenerasyon hastasında yapılan incelemeler sonucunda akciğer adenokanseri saptanmış ve tümör cerrahi olarak çıkarılmıştı. Tedaviye olan yanıtı bilinen 5 hastanın yüksek doz kortikosteroid ve/veya IVIg tedavisine yanıtı tam (Rankin skorunda 3 veya 4'ten 0'a düşme), 1'inin ise kısmi (Rankin skorunda 4'ten 1'e düşme) idi (Tablo 1).

Supratentoryal ve infratentoryal tutulumlu hastaların karşılaştırılması

İki hasta grubu arasında yaş, tümör varlığı ve anti-GAD antikoru düzeyi parametreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Ancak supratentoryal tutulumlu hasta grubunda kadınların sayısı infratentoryal tutulumlu hasta grubuna göre anlamlı derecede yüksekti (Tablo 2).

Tablo 1. Çalışmaya alınan hastaların klinik ve demografik özellikleri.

Hasta no.	Yaş / Cinsiyet	Klinik tanı	Tutumum bölgesi	Kanser	Tedavi yanıtı
1	47 / E	Serebellar dejenerasyon	İT	Yok	Bilinmiyor
2	13 / E	Serebellar dejenerasyon	İT	Yok	Bilinmiyor
3	67 / K	Serebellar dejenerasyon	İT	Akciğer adeno Ca	Tam
4	62 / E	LE, stiff-man sendromu	İT+ST	Yok	Tam
5	3 / K	LE	ST	Yok	Bilinmiyor
6	77 / K	LE	ST	Yok	Bilinmiyor
7	21 / K	Temporal lob epilepsisi	ST	Yok	Bilinmiyor
8	38 / K	LE	ST	Yok	Tam
9	47 / K	LE	ST	Yok	Kısmi
10	63 / K	Non-konvulzif status	ST	Yok	Tam

E, erkek; K, kadın; LE, limbik ensefalit; İT, infratentoryal; ST, supratentoryal; Ca, kanser.

Tablo 2. Supratentoryal ve İnftratentoryal tutulumlu hastaların karşılaştırılması.

	Supratentoryal (n=6)	İnftratentoryal (n=3)	p değeri
Yaş (Ort. ± SH)	41.5±11.1	42.3±15.8	0,484
Cinsiyet (K / E)	6/0	1/2	0,023
Anti-GAD düzeyi (IU/ml) (Ort. ± SH)	742.8±444.5	52.4±8.6	0,193
Tümör (Var/Yok)	0/6	1/2	0,134

Ort, ortalama; SH, standart hata; K, kadın; E, erkek; GAD, glutamik asit dekarboksilaz.

TARTIŞMA

Çalışmamızda ön tanısı otoimmün ensefalit olan hastaların önemli bir kısmında (%17.5) GAD antikor pozitif bulunmuştur. Özellikle limbik ensefalit ve non-konvulzif status gibi ağır klinik tablolarla başvuran hastalarda GAD antikorunun saptanması, bu hastaların sıklıkla immunoterapiye iyi yanıt vermeleri ve nadir de olsa kanser ile başvurabilmeleri, klasik otoimmün ensefalit sendromlarıyla gelen hastalarda GAD antikorunun tayini yapılmasının gerekliliğini göstermektedir. Çalışmamızda saptanan GAD antikor pozitiflik oranı diğer sık rastlanan otoimmün ensefalit ile ilişkili antikorların (anti-Hu, anti-NMDAR vb.) saptanma sıklığı ile benzerlik göstermektedir (%20-30) (4-6). Önceki yazılarda GAD antikor pozitif hastaların küçük bir kısmında tümör saptandığı bildirilmiştir (1-3, 7, 8). Bizim çalışmamızın sonuçları da bu bulguyu destekler niteliktedir. Bununla beraber çalışmamızda görüldüğü gibi %10 gibi düşük oranda hastada tümör saptanması bile GAD antikorunun bir paraneoplastik sendrom belirteci olarak kullanılabilceğini göstermektedir.

Çalışmamızda GAD antikor pozitif hastalarda saptanan klinik sendromlar literatürde bildirilenlerle uyumludur. Ancak, fazla sayıda hasta ile yapılan önceki çalışmalarda GAD antikor pozitif hastalarda etkilenen anatomik bölgeler ağırlıklı olarak omurilik (%36) ve serebellum (%28) gibi infratentoryal bölgeler iken (1-5, 7, 8) bizim çalışmamızda ön planda (%60) limbik ensefalit ve epilepsi gibi supratentoryal tutulum düşündürülen bulgular saptanmıştır. Bu farklılığın sebebi; ülkemize ait immunogenetik özelliklere bağlı olarak stiff-man sendromu ve progresif serebellar dejenerasyon gibi hastalıkların göreceli olarak az saptanması, bu hastalıkların tanısında klinik bulguların yeterli görülmesi ve bu sebeple antikor tayinine başvurulmaması veya klinisyenler tarafından bu hastalıkların ayırıcı tanısında GAD antikor ile ilişkili otoimmün ensefalitlerin yeterince sık düşünülmemesi olabilir. Ayrıca çalışmamızda supratentoryal ile infratentoryal tutulumlu hastalar arasında klinik ve yaş özellikleri açısından fark görülmemiştir. Otoimmün ensefalit ön tanısı ile incelemeye alınan ve ağırlıklı olarak infratentoryal tutulum gösterdiği bilinen 10 olgudan 3'ünde GAD antikor saptanması, özellikle infratentoryal tutulumlu olgularda anti-GAD tayininin yapılması gerektiğini düşündürmektedir.

Daha önceki çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda da anti-GAD otoimmünitesi ağırlıklı olarak kadınlarda saptanmıştır. Nörolojik sendromu olan hastalar arasında GAD antikorunun kadınlarda saptanma oranı, 61 ve 79 hastanın incelendiği iki farklı çalışmada %90'ın üzerinde bulunmuştur (1, 2). Bizim çalışmamızda saptanan supratentoryal tutulumlu hastalarda yüksek kadın cinsiyet oranı şimdiye kadar bildirilmemiştir. Çalışmamızın diğer bir ilginç bulgusu; istatistiksel anlamlılık bulunmamasına rağmen supratentoryal tutulumlu hastalarda GAD antikor düzeylerinin yüksek

saptanmasıydı. Önceki çalışmalarda stiff-man sendromlu ve serebellar dejenerasyonlu hastalarda da yüksek GAD antikor düzeylerine rastlanabileceği bildirilmiştir (2, 9, 10). Gerek cinsiyet gerekse antikor düzeyleri ile ilişkili bulgularımızın ileride daha fazla olguya yapılacak incelemelerle doğrulanması gerekmektedir.

Supratentoryal tutulumlu olgularda yüksek GAD antikor düzeylerinin saptanmasının, bu hastaların sık epileptik nöbet geçirmeleri ile ilişkili olması mümkündür. Geçmiş çalışmalarda sadece epileptik nöbetlerle nöroloji kliniğine başvuran hastaların %1-6'sında GAD antikor yüksek pozitif olarak saptanmıştır (6). Ayrıca GAD proteininin intraselüler lokalizasyonlu bir enzim olması ve antikorların hücre membranından geçememesi de, GAD antikorlarının nöbet patogeneğinde etkin rol oynama olasılığını düşürmektedir. Bu bulgular GAD antikor pozitifliğinin, epileptik nöbetlerin sebebi olmaktan çok sık nöbet zemininde gelişen nöronal yıkım ve kan-beyin bariyeri geçirgenlik artışı sonucunda gelişebileceğini düşündürmektedir.

Genel olarak çalışmamızda saptanan sendromlar GAD antikor ile ilişkisi bilinen klinik tablolar olmakla beraber bir olgumuzda (Olgu 4) saptanan ve progresif ensefalomiyelit, rijidite ve miyoklonus (PERM) adıyla da bilinen (2, 11) nadir tablonun 10 olguluk serimizde saptanması ilginçtir. Ayrıca literatürde GAD antikor pozitif hastalarda "epilepsia partialis continua" gibi epileptik status tabloları bildirilmekle beraber (1-3, 12) non-konvulzif status şimdiye kadar GAD antikor pozitif hiçbir hastada bildirilmemiştir. Bu olgumuz, status olgularında, non-konvulzif status ile ilişkilendirilmiş anti-Hu ve anti-NMDAR antikorları (13, 14) yanında GAD antikorunun da bakılması gerektiğini göstermektedir.

Çalışmamızda GAD antikor pozitif hastaların immunoterapiye iyi yanıt verdiği gözlemlendi. Literatürdeki çalışmalarda bu konuda çelişkili görüşler ileri sürülmüştür. Bazı yazılarda bizim olgularımızda olduğu gibi sadece kortikosteroid ve IVIg ile belirgin düzelme gözlenirken bazı olgularda ise ek olarak siklofosfamid ve azatioprin gibi ek immünsüpresif ajanlara ihtiyaç duyulmuştur (15). Bu farklılığın sebebinin anlaşılması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Sonuç olarak; GAD antikor ile ilişkili otoimmün ensefalitlere tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de sık rastlanmaktadır. Çalışmamız, GAD antikorunun tedaviye iyi yanıt ve kanser biyobelirteci olarak kullanılabilceğini göstermiştir. Bu sebeple otoimmün ensefalit tanısı ile izlenen hastalarda GAD antikor tayininin otoimmün ensefalit paneline eklenmesi ihmal edilmemelidir.

Kaynaklar

1. Saiz A, Blanco Y, Sabater L, González F, Bataller L, Casamitjana R, Ramió-Torrentà L, Graus F. Spectrum of neurological syndromes associated with glutamic acid decarboxylase antibodies: diagnostic clues for this association. *Brain*. 2008;131:2553-63.
2. McKeon A, Robinson MT, McEvoy KM, Matsumoto JY, Lennon VA, Ahlskog JE, Pittock SJ. Stiff-man syndrome and variants: clinical course, treatments, and outcomes. *Arch Neurol*. 2012;69:230-8.
3. Pittock SJ, Yoshikawa H, Ahlskog JE, Tisch SH, Benarroch EE, Kryzer TJ, Lennon VA. Glutamic acid decarboxylase autoimmunity with brainstem, extrapyramidal, and spinal cord dysfunction. *Mayo Clin Proc*. 2006;81:1207-14.
4. Dalmau J, Gultekin HS, Posner JB. Paraneoplastic neurologic syndromes: pathogenesis and physiopathology. *Brain Pathol*. 1999;9:275-84.
5. Bataller L, Kleopa KA, Wu GF, Rossi JE, Rosenfeld MR, Dalmau J. Autoimmune limbic encephalitis in 39 patients: immunophenotypes and outcomes. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007;78:381-5.
6. Vincent A, Bien CG, Irani SR, Waters P. Autoantibodies associated with diseases of the CNS: new developments and future challenges. *Lancet Neurol*. 2011;10:759-72.
7. Hernández-Echebarría L, Saiz A, Arés A, Tejada J, García-Tuñón L, Nieves C, Graus F. Paraneoplastic encephalomyelitis associated with pancreatic tumor and anti-GAD antibodies. *Neurology*. 2006;66:450-1.
8. Piccolo G, Tavazzi E, Cavallaro T, Romani A, Scelsi R, Martino G. Clinico-pathological findings in a patient with progressive cerebellar ataxia, autoimmune polyendocrine syndrome, hepatocellular carcinoma and anti-GAD autoantibodies. *J Neurol Sci*. 2010;290:148-9.
9. Matà S, Muscas GC, Cincotta M, Bartolozzi ML, Ambrosini S, Sorbi S. GAD antibodies associated neurological disorders: incidence and phenotype distribution among neurological inflammatory diseases. *J Neuroimmunol*. 2010;227:175-7.
10. Rakocevic G, Floeter MK. Autoimmune stiff person syndrome and related myelopathies: understanding of electrophysiological and immunological processes. *Muscle Nerve*. 2012;45:623-34.
11. Warren JD, Scott G, Blumberg PC, Thompson PD. Pathological evidence of encephalomyelitis in the stiff man syndrome with anti-GAD antibodies. *J Clin Neurosci*. 2002;9:328-9.
12. Olson JA, Olson DM, Sandborg C, Alexander S, Buckingham B. Type 1 diabetes mellitus and epilepsy partialis continua in a 6-year-old boy with elevated anti-GAD65 antibodies. *Pediatrics*. 2002;109:E50.
13. Goldberg EM, Taub KS, Kessler SK, Abend NS. Anti-NMDA receptor encephalitis presenting with focal non-convulsive status epilepticus in a child. *Neuropediatrics*. 2011;42:188-90.
14. Espay AJ, Kumar V, Sarpel G. Anti-Hu-associated paraneoplastic limbic encephalitis presenting as rapidly progressive non-convulsive status epilepticus. *J Neurol Sci*. 2006;246:149-52.
15. Malter MP, Helmstaedter C, Urbach H, Vincent A, Bien CG. Antibodies to glutamic acid decarboxylase define a form of limbic encephalitis. *Ann Neurol*. 2010;67:470-8.