

Gilles de la Tourette sendromu ve obsesif kompulsif bozukluk tanılı çocuklarda *Cryptococcus neoformans* antikorları

Cryptococcus neoformans antibodies in Gilles de la Tourette syndrome and obsessive-compulsive disorders

Çağrı Ergin*, Burcu Çakaloz**, Yüksel Akkaya*, Gülşen Ünlü**, Adil Zorlu**

*Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Denizli

**Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları AD, Denizli

Özet

Çocukluk çağında Tourette sendromu ve obsesif kompulsif bozukluk nedeni bilinmeyen nöropsikiyatrik bozukluklardır. Bu çalışmanın amacı, immünsistemi sağlam konakta sessiz infeksiyon etkeni olarak bulunabilen *Cryptococcus neoformans*'ın Tourette bozukluğu ve obsesif kompulsif bozukluk hastalarında antikorlarının varlığını araştırmaktır. Araştırmaya alınan 38 hastanın 6'sında (%15.7) *C.neoformans* antikorları saptanırken, kontrol olarak 35 sağlıklı gönüllünün 4'ünde (%11.4) antikor saptandı ($p>0.05$). Sonuç olarak Tourette bozukluğu ve obsesif kompulsif bozukluk tanılı hastalarda *C.neoformans* antikorları toplumdan farklı bulunmamıştır.

Pam Tıp Derg 2010;3(3):143-146

Anahtar sözcükler: Tourette sendromu, obsesif kompulsif bozukluk, *Cryptococcus neoformans*, seroloji

Abstract

Gilles de la Tourette and obsessive-compulsive disorder are neuropsychiatric disorders of unknown cause in childhood period. The aim of the study is to compare of antibody presence to *C.neoformans* that is "dormant" infectious agent in immunocompetent hosts, between obsessive-compulsive disorder and Gilles de la Tourette. *C.neoformans* antibodies were found in 6 out of 38 (15.7%) patients and 4 out of 35 (11.4%) healthy volunteers ($p>0.05$). Our results showed that *C.neoformans* antibodies in obsessive-compulsive disorder and Gilles de la Tourette syndrome are not different from normal population.

Pam Med J 2010;3(3):143-146

Keywords: Gilles de la Tourette, obsessive compulsive disorder, *Cryptococcus neoformans*, serology

Giriş

Cryptococcus neoformans, geniş kapsülülü ile karakterize bazidiyoçet bir maya mantaridir. Çevresel ortamlarda kolonize olur, solunum yolu ile organizmaya bulaşarak kriptokokkoza neden olur. Çoğunlukla AIDS, malignite ve kemoterapi alan hastalar gibi bağışıklığı baskılanan konak kriptokokkoz için risk grubudur. Mayanın ülkemizde de görülen A ve D serotiplerinin immünitesi sağlam konakta infeksiyon oluşturmadığı, farklı dokularda kolonize olarak serolojik cevaba neden olduğu bilinmektedir. Ülkemizde sağlıklı kişilerde yapılan az sayıda seroprevalans taramalarında *C.neoformans* antikor oranı farklı bölgelerde % 5-16 arasında saptanmıştır. Bu araştırmalarda indirekt immunfluoresans antikor (IFAT) yöntemi kullanılmıştır [1-3].

C.neoformans'ın patogenezi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. İnsanda oluşan infeksiyon primer progresif bir süreç olduğu kabul edilmekle birlikte, etkenin subklinik bir infeksiyonu takiben asemptomatik "dormant" dönemde kalması ve reaktivasyonu da patogeneze sorgulanmaktadır. *C.neoformans*'ın asemptomatik "dormant" dönemine neden olan faktörler henüz bilinmemektedir [4-6]. Ancak bu dönem dahilinde konakta immün cevap oluşmakta ve IgG yapısındaki antikolar serolojik olarak saptanabilmektedir.

C.neoformans'ın çevresel ortamda difenolik oksidazları aktif hale gelebilmektedir. Çevresel ortamda difenolik oksidazları aktif hale gelen *C.neoformans* kolaylıkla infeksiyona yol açmaktadır. Dokuda başta melanin olmak üzere

Çağrı Ergin

Yazışma Adresi: Pamukkale Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Denizli
e-mail: cagri@pau.edu.tr

Yazının dergiyeye gönderilme tarihi: 16.05.2010

Yazının basıma kabul tarihi: 23.09.2010

farklı bileşikler ürettiği saptanabilmektedir ve bu ürünlerin sentezi, santral sinir sisteminin birçok basamağında yer alan fenilalanin, DOPA ve benzeri maddelerden geçmektedir. Ancak kapsüller difenolik oksidazlarının aktif olmayan kökenlerinin konakta meydana getirdiği kolonizasyonun immün cevap aktivitesi hakkında bilgi yoktur [6,7]. Bu durum, hipotetik olarak, *C.neofomans*'in kapsül yapısında biyolojik aktif ajan olarak bulunan dopamin ve melanin yolaklarının sentezini ve psikiyatrik hastalıkların ilişkili olduğu mekanizmalar ile etkileşim içinde olabileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak infeksiyon oluşmaksızın mayanın glukronomannan yapısına karşı serolojik cevap gelişebilecektir.

Tourette bozukluğu ve obsesif kompulsif bozukluk (OKB) çocuk çağında birlikteliği yaklaşık %30-50 kadar olan nöropsikiyatrik bozukluklardır [8]. Tourette bozukluğu; çocukluk çağı başlangıçlı, en az 1 yıl süren, çoğul motor ve vokal tiklerle karakterize bozukluktur. Obsesif kompulsif bozukluk; istenmeyen, işlevleri ciddi ölçüde engelleyen, belirgin sıkıntıya neden olan tekrarlayıcı, girici düşünceler ya da katı kurallara göre yapılan yineleyici, törensel davranışlar, zihinsel eylemlerle karakterizedir [9]. Her iki bozukluğunda etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Obsesif kompulsif bozukluklu bazı vakaların genetik temelinin Tourette bozukluğu ile benzerlik gösterdiği düşünülmektedir [10]. Ayrıca; her iki bozukluğun etiyolojisinde benzer şekilde; A grubu beta hemolitik streptokok infeksiyonu sonrası otoimmün mekanizmaların rolünden bahsedilmekle birlikte bu konuda elde edilen veriler azdır [11-13]. Bu konuda destekleyici bilgiler olmakla birlikte infeksiyonu dışlayan araştırmalar da bulunmaktadır [13,14]. Literatürde kriptomokal infeksiyonlara bağlı nöropsikiyatrik hastalıklar, mani ve psikoz vakaları bildirilmektedir [15-17].

Bu araştırmanın amacı; nedeni bilinmeyen ve otoimmün mekanizmaların neden olabileceği düşünülen Tourette bozukluğu ve OKB hastalarında dormant infeksiyonun göstergesi olarak *C.neofomans*'a karşı antikor varlığının araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem

Araştırmaya Pamukkale Üniversitesi Eğitim, Araştırma ve Uygulama Merkezi Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları polikliniğine başvuran hastalar alındı. DSM-IV tanı ölçütlerine göre yarı yapılandırılmış görüşme teknikleri ile tanı konulan hastalar immünsüpresyon, evde/ çevrede hayvan besleme, seyahat öyküsü ve

yaşam alanına yönelik anket yapıldı. Tourette bozukluğu ve/veya obsesif-kompulsif bozukluk tanısı alan 38 hasta ve sağlıklı 35 gönüllü çalışma gruplarını oluşturdu. İmmün sistemi normal olan hastalar çalışma gruplarını oluştururken, anamnezinde nedeni belirlenememiş infeksiyon hikayesi bulunan olgular çalışma gruplarına alınmadı.

C.neofomans antikorlarının taranması için, antikor taramalarında *C.neofomans* serotip A (ATCC 90112) antijen olarak kullanıldı. Antikor varlığı taranması için, ülkemizde daha önceki taramalarda kullanılan, Bindschadler ve Bennett tarafından tanımlanan İFAT yöntemi uygulandı [3, 18]. Kısaca 3 gün süre ile Sabouraud'un dektrozlu agar besiyerinde oda sıcaklığında üretilen *C.neofomans* ATCC 90112 kökeni, PBS tamponu ile 3 defa yıkandı. McFarland 2.0 olacak şekilde süspanse edilen maya hücreleri, teflon kaplı lam üzerine 20 µl olacak şekilde dağıtıldı. Etüvde, 60°C'da bir saat süre ile bekletilen lamlar, aynı gün içinde çalışıldı. Tarama dilüsyonu 1:1 olarak kabul edildi. Test kuyucuklarına 20 µl serum örneği damlatıldı. Nemli ortamda oda ısısında yarım saat inkübasyonu takiben lamlar Sorenson fosfat tamponunda yıkandı. Her örneğin üzerine 20 µl sekonder antikor (anti-human IgG+A+M, keçi üretimi, Euroimmün) damlatıldı. Oda ısısında Ewans mavisini içeren Sorenson fosfat tamponunda yarım saat inkübasyona bırakıldı. Örnekler floresans mikroskopunda x40 büyütme ile değerlendirildi. +2 ve üstü reaksiyon veren örnekler "pozitif" kabul edildi. Örneklerinin istatistik analizinde; nonparametrik veriler için χ^2 testi (Epi Info Ver 6.0, DSÖ, Cenevre, İsviçre), parametrik veriler için student t testi (Origin 8.1,Northampton, ABD) programı kullanıldı. İstatistik hata payı %5 kabul edildi.

Bulgular

Araştırmaya alınan hasta ve kontrol grubu arasında yaş, cinsiyet, yaşam yeri, sulak alanda yaşama, yurt dışına seyahat etme ve hayvan besleme öyküsü bakımından istatistiksel olarak fark saptanmadı (Tablo 1). Hasta grubunun 26'sı (% 68.4) OKB, 5' i (%13.2) Tourette Bozukluğu, 7' si (%18.4) OKB' ye eşlik eden Tik Bozukluğu tanısına sahip idi. Gruplarda geçirilmekte olan üst solunum yolu hastalığı ve/veya astım hikayesi olan çocuk bulunmamaktaydı.

İFA yöntemi ile anti-*C.neofomans* antikorları 38 hastanın 6'sında (%15.7), 35 sağlıklı gönüllünün 4'ünde (%11.4) pozitif saptandı. Bu oranlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0.05).

Tablo 1: Araştırmaya alınan hasta (n=38) ve sağlıklı gönüllü (n=35) gruplarının karşılaştırılması [n, (%)]

		Hasta		Kontrol		p
Yaş (yıl; ort ± st.sapma)		12.80 ± 0.97		11.29 ± 2.83		0.069
Cinsiyet	Kız	22	(57.9)	18	(51.4)	0.579
	Erkek	16	(42.1)	17	(48.6)	
Yaşam Yeri	Kent içi	2	(5.3)	1	(2.9)	0.567
	Kent kırsalı	31	(81.6)	25	(71.4)	
	Kasaba	3	(7.9)	6	(17.1)	
	Köy	2	(5.3)	3	(8.6)	
Sulak alanda yaşam	Var	37	(97.4)	34	(97.1)	0.953
	Yok	1	(2.6)	1	(2.9)	
Seyahat öyküsü	Var	37	(97.4)	34	(97.1)	0.953
	Yok	1	(2.6)	1	(2.9)	
Hayvan besleme	Var	19	(50.0)	21	(60.0)	0.391
	Yok	19	(50.0)	14	(40.0)	

Tartışma

İnfeziyöz hastalıklar sürecinde gelişen, dormant infeksiyonlarda ortaya çıkan veya post-infeziyöz çok sayıda nöropsikiyatrik hastalık rapor edilmektedir. HIV infeksiyonlarında çocukluk çağında görülen nöropsikiyatrik hastalıkların çoğunlukla streptokokkal antijenlere bağlı otoimmün reaksiyon olduğu ileri sürülmekle birlikte, bu konuda fikirbirliği yoktur [11-14, 19]. Nöropsikiyatrik olgular ile sıklıkla HIV infeksiyonu varlığında karşılaşılmaktadır [20]. *C.neoformans* çoğunlukla immunitesi bozulan konakta infeksiyon etkenidir. Ancak immunitesi sağlam konakta da "dormant" infeksiyonların olabileceği de bildirilmiştir [4-6].

Sunulan çalışmadan elde edilen veriler, araştırma grubunu oluşturan Tourette Bozukluğu ve OKB tanılı çocuklarda *C.neoformans*'a karşı antikor varlığının toplumdan yüksek olmadığını göstermektedir. Yapılan araştırmalarda çocukluk çağında *C.neoformans*'a karşı antikor seviyeleri bölgesel farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıkların güvercin ve kanatlı besleme alışkanlıkları gibi çevresel risk faktörlerine; pulmoner alerjik akciğer hastalıkları ve astım gibi kişisel faktörlere bağlı olabileceği de bildirilmiştir [21].

C.neoformans'ın serotipik sınıflandırması, immünize edilen poliklonal tavşan plazması ile kapsüler polisakkaridlerinin reaksiyon oluşturması temeline dayanır. Bu kapsüler polisakkarit yapının büyük bir çoğunluğu glukronoksilomannandan (kapsülün %90'ını), az bir kısmı da galaktoksilomannan ve mannopteinden meydana gelir. Glukronoksilomannan yapısına bağlı ksiloz yan grupları serotipler arasındaki farklılıkları meydana getirir. Antiserum sınıflama sistemi kapsül içinde bulunan heterojeniteden etkilenmez. Antikor oluşumu major ortak antijen olarak kabul edilen kapsüler polisakkarit

yapılarına karşı gelişir. Bu nedenle serolojik olarak serotipe yönelik antikor oluşmaz [22-25]. *C.neoformans*'a karşı organizmada oluşan antikorların saptanmasına yönelik yöntemler farklıdır. Bu araştırmada kullanılan yöntemin niteliksel olması bir dezavantajdır. Antikor saptama yöntemi olarak ELISA tekniğinin kullanılması nicelik değerler verebilmektedir. ELISA ve immunfluoresans yöntemlerinde farklı mikroorganizmaların (*Pneumococcus spp.* ve *Trichosporon spp.*) proteinlerine karşı gelişen çapraz reaksiyon ise pozitiflik oranlarının daha yüksek saptanmasına yol açabilmektedir. Bu nedenle *C.neoformans*'a karşı serolojik araştırmalarda immunblot yöntem daha sık tercih edilmektedir [21]. Sunulan araştırmada; aynı şartlar altında yapılan kontrol (4/35; %11.4) ve çalışma grubunun (6/38; %15.7) karşılaştırılmasında elde edilen değerlerin istatistiki sonuçları, serolojik yöntemden dolayı oluşabilecek az orandaki değişimin sonucu etkilemeyeceğini düşündürmüştür.

Bugün için mani ve psikoz ile ilişkilendirilen *C.neoformans* infeksiyonları rapor edilmiştir [15-17]. Asemptomatik kriptokokkoz olgularının saptanması, bu olguların nöropsikiyatrik değerlendirilmesi ve literatürde yayınlaması, *C.neoformans*'ın neden olduğu infeksiyonlara bağlı klinik tabloların daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

Kaynaklar

1. Casadevall A, Perfect JR. *Cryptococcus neoformans*. Washington DC: ASM Press, 1998.
2. İlikit M, Ergin Ç, Polat E, Kaleli İ. Seroprevalance of *Cryptococcus neoformans* antibodies in- and around eucalyptorium villagers of East Mediterranean region in Anatolia, Turkey. 2005; 6th International Conference of Cryptococcus & Cryptococcosis, E-18, Boston, ABD.
3. Tümbay E. İzmir yöresinde *Cryptococcus neoformans* ve kriptokokkoz. II. Kısım. Hasta materyalinde ve normal görünüşlü kişilerin serumunda indirekt floresan antikor (IFA) yöntemi ile *Cryptococcus neoformans*'a

- karşı antikor araştırılması. Tübitak VI. Bilim Kongresi, Tıp Araştırma Grubu Tutanağı (17-21 Ekim 1977, Ankara), 1977: 785-803.
4. Garcia-Hermoso D, Janbon G, Dromer F. Epidemiological evidence for dormant *Cryptococcus neoformans* infection. J Clin Microbiol 1999; 37: 3204-9.
 5. Dromer F, Ronin O, Dupont B. Isolation of *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* from an Asian patient in France: evidence for dormant infection in healthy subjects. J Med Vet Mycol 1992; 30: 395-7.
 6. Saha DC, Goldman DL, Shao X, et al. Serologic evidence for reactivation of cryptococcosis in solid-organ transplant recipients. Clin Vac Immunol 2007; 14: 1550-4.
 7. Nosanchuk JD, Rosas AL, Lee SC, Casadevall A. Melanization of *Cryptococcus neoformans* in human brain tissue. Lancet 2000; 355: 2049-50.
 8. Marcus D, Kurlan R. Tics and its disorders, Neurol Clin 2001; 735-58.
 9. American Psikiyatri Birliği. Mental bozuklukların tanıs ve sayımsal el kitabı, dördüncü baskı (DSM-IV) (Çev. Ed. Köroğlu E) Hekimler Yayın Birliği, Ankara, 1995.
 10. Pauls DL, Leckman IF. The inheritance of Gilles de la Tourette syndrome and associated behaviors: Evidence for a genetic hypothesis. N Engl J Med 1986; 315: 993-7.
 11. Sadhasivam S, Litman RS. Pediatric autoimmune neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infections - anesthetic implications and literature review. Pediatr Anesth 2006; 573-7.
 12. Kurlan R, Johnson D, Kaplan EL, and the Tourette Syndrome Study Group. Streptococcal infection and exacerbations of childhood tics and obsessive-compulsive symptoms: a prospective blinded cohort study. Pediatrics 2008; 121: 1188-97.
 13. Leslie DL, Kozma L, Martin A, et al. Neuropsychiatric disorders associated with streptococcal infection: a case-control study among privately insured children. J Am Acad Child Adolesc Psychiatry 2008; 47: 1166-72.
 14. Schrag A, Gilbert R, Giovannoni G, Robertson MM, Metcalfe C, Ben-Sholomo Y. Streptococcal infection, Tourette syndrome, and OCD: is there a connection? Neurology 2009; 73: 1256-63.
 15. Johannessen DJ, Wilson LG. Mania with cryptococcal meningitis in two AIDS patients. J Clin Psychiatry 1988; 49: 200-1.
 16. Malton ML, Rinkoff JS, Doft BS, Kennerdell JS. Cryptococcal endophthalmitis and meningitis associated with acute psychosis and exudative retinal detachment. Am J Ophthalmol 1987; 15: 104: 438-9.
 17. Prakash PY, Sugandhi RP. Neuropsychiatric manifestation of confusional psychosis due to *Cryptococcus neoformans* var. *grubii* in an apparently immunocompetent host: a case report. Cases J 2009; 2: 9084.
 18. Bindschadler DD, Bennett JE. Serology of human cryptococcosis. Ann Int Med 1968; 69: 45-52.
 19. R.Schneider, M.Robinson, J.Levenson. Psychiatric presentations of non-HIV infectious diseases: Neurocysticercosis, lyme disease, and pediatric autoimmune neuropsychiatric disorder associated with streptococcal infection. Psychiatr Clin North Am 2002; 25: 1-16.
 20. Baumann RJ, Espinosa PS. Neuroepidemiology of HIV/AIDS. Handb Clin Neurol 2007; 85: 3-31.
 21. Davis J, Zheng WY, Glatman-Freedman A, et al. Serologic evidence for regional differences in pediatric cryptococcal infection. Pediatr Infect Dis J 2007; 26: 549-51.
 22. Ikeda R, Shinoda T, Fukazawa Y, Kaufman L. Antigenic characterization of *Cryptococcus neoformans* serotypes and its application to serotyping of clinical isolates. J Clin Microbiol 1982; 16: 22-9.
 23. Bose I, Reese AJ, Ory JJ, Janbon G, Doering TL. A Yeast under cover: the capsule of *Cryptococcus neoformans*. Eukaryot Cell 2003; 655-63.
 24. McFadden D, Zaragoza O, Casadevall A. The capsular dynamics of *Cryptococcus neoformans*. Trends Microbiol 2006; 14: 497-505.
 25. Rodrigues ML, Fonseca FL, Frases S, Casadevall A, Nimrichter L. The still obscure attributes of cryptococcal glucuronoxylomannan. Med Mycol 2009; 47: 783-8.