

Paraneoplastik Sendromu Olmayan Küçük Hücreli Akciğer Kanseri Hastalarda Anti-Nöronal Antikorlar

Anti-Neuronal Antibodies in Small Cell Lung Cancer Patients Without Paraneoplastic Disorders

Sema İÇÖZ, Erdem TÜZÜN, Piraye OFLAZER, Gülşen AKMAN-DEMİR

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada küçük hücreli akciğer kanserli (KHAK) hastalarda serumda bulunan anti-nöronal antikorların araştırılması ve bulguların, sağlıklı kişilerden alınan örneklerle karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmaya 33 KHAK ve 25 sağlıklı kontrol olgusu alındı. Olgulardan alınan serum örneklerinde immünohistokimya yöntemi ile anti-nöronal antikor taraması yapıldı.

Bulgular: KHAK olgularının 7'sinde (%21,2) anti-nöronal antikorlar (tümü anti-nükleer) saptanırken, 25 sağlıklı kontrol olgusunun serumlarında anti-nöronal antikor gözlenmedi. Hasta grupları ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı.

Sonuç: KHAK hastalarında immünohistokimya incelemesi pratik, hızlı ve güvenilir bir tarama testi olarak kullanılabilir ve western blot incelemesi yapılması gereken hastaların belirlenmesinde yararlı olabilir. (*Nöropsikiyatri Arşivi 2008; 45: 6-8*)

Anahtar Kelimeler: Anti-nöronal antikorlar, küçük hücreli akciğer kanseri, paraneoplastik sendrom

ABSTRACT

Objective: In this study, we aimed to examine serum anti-neuronal antibodies in small cell lung cancer (SCLC) cases and compare our findings with those obtained from sera of healthy cases.

Method: Thirty-three SCLC and 25 healthy control cases were enrolled in our study. Anti-neuronal antibodies were screened by immunohistochemistry in serum samples obtained from these cases.

Results: While anti-neuronal antibodies (all anti-nuclear) were detected in 7 (21.2%) SCLC cases, sera of 25 healthy control cases did not reveal any anti-nuclear antibodies. The difference between the patient and control groups was statistically significant.

Discussion: Immunohistochemistry is a practical, rapid and reliable screening test for SCLC patients and might be useful in the determination of patients who need to be further examined with western blot technique. (*Archives of Neuropsychiatry 2008; 45: 6-8*)

Key words: Anti-neuronal antibodies, small cell lung cancer, paraneoplastic syndrome

Giriş

Küçük hücreli akciğer kanseri (KHAK) tüm primer akciğer kanserlerinin %20-25 kadarını oluşturur ve paraneoplastik nörolojik sendrom ile en sık ilişki gösteren tümörlerden biridir. Paraneoplastik sendromlar (PS) tümörlerin metastaz ve direkt yayımları olmaksızın uzak etkileriyle ortaya çıkan, sinir sisteminin herhangi bir bölgesini etkileyebilen ve genellikle immün aracılı mekanizmalarla gelişen hastalıklardır (1-4). Paraneoplastik sendromlarda serum ve beyin-omurilik sıvısı (BOS)'nda nöronal anti-jenlere karşı gelişmiş antikorlar bulunabilir (5-9). Bu otoantikörlerin saptanması başvuru sebebi olan, nörolojik yakınmaların sebebinin ortaya konmasını sağlar ve altta yatan tümörün tipi ve nerede aranacağı konusunda hekimi yönlendirir (6). Bu antikorlar altta yatan kanser en ileri görüntüleme yöntemiyle bile gösterilemeyecek kadar küçük olduğunda bile tümörün varlığından kuşku

duyulmasını sağlar. Paraneoplastik sendroma ait nörolojik bulguların, genellikle kansere ait bulgulardan önce gözlenmesi paraneoplastik antikorların kanserlerin erken tanı ve tedavisindeki önemini arttırmaktadır (6,8,10). Paraneoplastik anti-nöronal antikorlar sağlıklı kişilerde bulunmamakla beraber (11,12), bazı KHAK olgularında, PS bulguları olmaksızın gösterilebilmektedir (13,14). Bu çalışmada, küçük hücreli akciğer kanserli (KHAK) hastalarda serum anti-nöronal antikorları araştırılmış ve bulgular, sağlıklı kişilerden alınan örneklerle karşılaştırılmıştır.

Hastalar ve Yöntem

Olgular

Çalışmaya PS'ü olmayan 33 KHAK ve 25 sağlıklı kontrol olgusu alındı. Olgulardan alınan serum örneklerinde immünohistokimya yöntemi ile anti-nöronal antikor taraması yapıldı. Çalışmaya

İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, İstanbul Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Kliniği, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Kliniği, Medikal Onkoloji Kliniği ve Yedikule Göğüs Hastalıkları Kliniği'ne başvuran 33 KHAK hastası alındı. Kontrol grubu İstanbul Tıp Fakültesi çalışanlarından oluştu. Tüm hasta ve sağlıklı olguların anamnezlerinde ellerde ve ayaklarda uyuşma, karıncalanma, iğnelenme, yanma, çift görme, el ve vücutta titreme, sıçrama, peltek konuşma, dengesizlik, baş dönmesi, güçsüzlük, halsizlik, kolay yorulma ve kas ağrısı gibi yakınmalar özellikle sorgulandı. Bu tür yakınmaları bulunan hastalar bu çalışma kapsamı dışında tutuldu.

İmmünohistokimya

Hastalardan alınan kan örnekleri santrifüj edildikten sonra ayrılan serumlar çalışılana kadar ependorf tüp içinde -80°C'de saklandı. İmmünohistokimya yöntemi kullanılarak, olguların serumunda antinöronal antikor varlığına bakıldı. Sıçan beyni sıvı azotla dondurulup, kriyostatla 7-8 µm'lik kesitler alındı. Kesitler %70 metanol-%30 aseton solüsyonuyla fikse edildi ve %0.3 H₂O₂ ve %5 keçi serumu ile inkübe edildi. Ardından gece boyunca 4°C'de serum örnekleri (1:200 dilüsyon) ile inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün biyotinle işaretli anti-insan IgG'si (Vector, Burlingame, CA) ve avidin-peroksidaz kompleksi (Vector) ile inkübe edildi. Diaminobenzidin (DAB) kromojeniyle muamele. Edildikten sonra hematoxilen ile zıt boyama yapıldı. Yapılıp kapatma ortamıyla kapatıldı. Pozitif kontrol olarak anti-Hu, anti-Ri, anti-Yo ve anti-Ma pozitif serum örnekleri kullanıldı.

Bulgular

Otuzüç KHAK olgusunun (3 kadın, 30 erkek) yaş ortalaması 52±12 ve yaş aralığı 30-73 idi. Sorgulama ve nörolojik muayene ile bu olgularda paraneoplastik sendrom düşündürülen bulgu saptanmadı. Herhangi bir sağlık sorunu olmayan sağlıklı 25 kişi normal kontrol grubunu oluşturdu. Bu grupta 25 olgu (13 kadın, 12 erkek) bulunuyordu. Grubun yaş ortalaması 36±12 ve yaş aralığı 21-75 idi.

İmmünohistokimya

Paraneoplastik sendromu olmayan KHAK olgularının 7'sinde (%21,2) anti-nöronal antikor saptanırken, 25 sağlıklı kontrol olgusunun serumlarında anti-nöronal antikor gözlenmedi. KHAK grubu ile sağlıklı kontrol grubu antikor pozitifliği açısından Fisher'in kesin testi ile karşılaştırıldığında, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.01). Saptanan antikorların tümü yaygın olarak santral sinir sistemi hücrelerinin nükleuslarına bağlanıyordu. Bu boyanma paterni anti-Hu ve anti-Ri antikorlarının boyanma paternine benzerlik göstermekteydi (13,15,16) (Şekil 1). Serum antinöronal antikorları saptanan olgularla saptanmayanlar arasında yaş ve cinsiyet özellikleri açısından anlamlı bir fark yoktu.

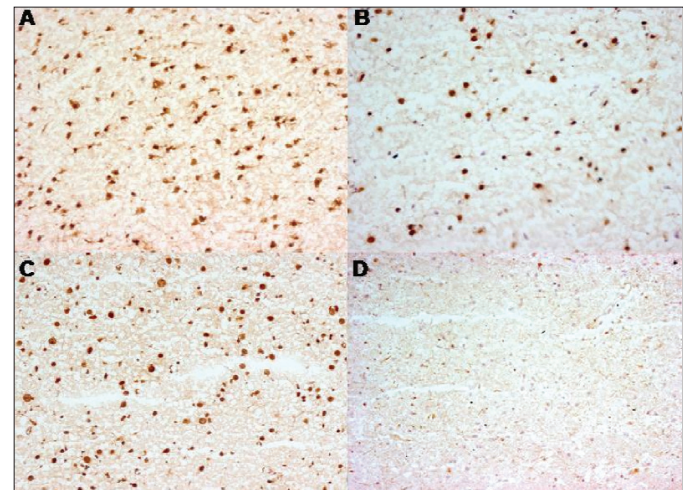
Tartışma

Bu çalışmada 33 KHAK'lı hastanın 7'sinden (%21) alınan serum örneklerinde merkezi sinir sistemi nöronlarının nükleuslarına bağlanan IgG yapısında antikorlar bulunduğu gösterildi. Buna karşın normal kontrol olgularının serumlarında böyle bir bağlanma gösterilemedi. Önceki bazı çalışmalarda PS'ü olmayan KHAK olgularında anti-nöronal antikorların %16-17 oranında saptanabi-

leceği bildirilmiştir (18,19). Bizim çalışmamızda da buna benzer bir oran sözkonusudur. İmmünohistokimyasal olarak nöronlara bağlanma gözlenen olguların tümünde nükleer boyanma vardı. Western blot analizleri yapılmadan bu antikorların hangi proteinleri tanıdığını kesin olarak söylemek mümkün değildir. Ancak, nöronal nükleer boyanma başlıca anti-Hu ve anti-Ri antikorlarını akla getirir. Nitekim, anti-nöronal antikor pozitif olgularımızın bağlanma paterni anti-Hu ve anti-Ri antikorlarının bağlanma paternine benzemekteydi. KHAK ve anti-Hu birlikteliği sık görüldüğünden olgularımızda gözlenen antikorun anti-Hu olma olasılığı yüksek görünmektedir (20-22).

Bu çalışmada incelenen hastaların hiçbirinde nörolojik tutuma dair yakınma yoktu. Kuşku duyulan olgularda yapılan nörolojik muayene de normal bulunmuştu. Ancak bütün olgular rutin nörolojik muayene ve EMG gibi yöntemlerle incelenmemişti. Bu tür ayrıntılı incelemeler yapılmış olsaydı, bazı olgularda subklinik nörolojik tutulum varlığı saptanmış olabilirdi. Bu konu çalışmamızın en önemli zayıflığını oluşturmaktadır.

Çalışmamız paraneoplastik nörolojik sendrom kuşkusuna ile izlenen olgularda immünohistokimya incelemesinin bir tarama testi olarak kullanılabilceğini, böylece daha pahalı ve zor bir yöntem olan western blot incelemesine gidecek örneklerin ön bir taramadan geçirilerek gereksiz incelemelerin önlenmesinin sağlanabileceğini göstermektedir. Ayrıca henüz kanseri bilinmeyen olgularda da hekimi kanser araştırmasına yönlendirebileceği ve bu şekilde kanserin erken tanı ve tedavisine olanak sağlayacağı açıktır. Paraneoplastik sendromlu hastaların nörolojik tablolarının tedaviye dirençli olduğu gözönünde bulundurulursa, PS tanısının mümkün olduğunca erken konmasının nörolojik yönden çok ilerlemeden tedaviye olanak tanıyacağı ve bu şekilde nörolojik hasarın önlenebileceği de düşünülebilir (10,23-25). Kanserli hastaların serumlarında anti-nöronal antikorların saptanmasının düşük tümör evresi, iyi sağkalım ve iyi prognozla ilişkili olduğunu bildiren yayınlar vardır (21,22). Dolayısıyla çalışmamızda kullanılan yöntemle hastanın prognozu hakkında fikir sahibi olmak da mümkün olabilecektir.



Şekil 1. Sıçan beyni serebrum kesitlerinde KHAK (A), pozitif kontrol (B,C) ve normal kontrol (D) olgularının serum örnekleri ile immünohistokimya incelemesi kullanılarak elde edilen boyanma paternleri. Paraneoplastik sendromu olmayan KHAK olgularının serum örnekleri ile elde edilen anti-nükleer boyanma paterni, anti-Hu pozitif (B) ve anti-Ri pozitif (C) olguların serum antikorları ile elde edilen paterne benzerlik göstermekteydi (tüm şekiller x200 büyütme, hematoxilen ile hafif zıt boyama).

Teşekkür

Yazarlar, bilimsel danışmanlığından dolayı Prof.Dr. Safiye Kaya'ya, veri toplamaya yardımlarından dolayı Prof.Dr. Gül Öngen'e, Prof.Dr. Gökhan Demir'e, Doç.Dr. Yeşim Eralp'e, Doç.Dr. Çağlar Çuhadaroğlu'na, Uzm. Dr. Arman Poluman'a, Uzm. Dr. Fikret Aysal'a, bilimsel desteğinden dolayı Prof.Dr. Güher Saruhan Direskeneli'ye, KHAK'lı olguların nörolojik muayenesini yapan Uzm. Dr. Zeliha Matur'a, laboratuvar çalışmasında destek ve katkılarından dolayı Biyolog Hatice Taşlı'ya teşekkür ederler. Bu araştırma İ.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (T-721/280699).

Kaynaklar

- Anderson NE, Hutchinson DO, Nicholson GI ve ark. Intestinal pseudo-obstruction, myasthenia gravis, and thymoma. *Neurology* 1996;47:985-7.
- Lowe BA, Mershon C, Mangalik A. Paraneoplastic Neurological Syndrome in Transitional Cell Carcinoma of The Bladder. *The J Urology* 1992;147:462-4.
- Patchell RA., Posner JB. Neurologic complications of carcinoid. *Neurology* 1986;36:745-9.
- Rudnicki SA, Dalmau J. Paraneoplastic syndromes of the spinal cord, nerve, and muscle. *Muscle & Nerve* 2000;23:1800-18.
- Benyahia B, Liblau R, Merle-Beral H ve ark. Cell-Mediated Autoimmunity in Paraneoplastic Neurological Syndromes with Anti-Hu Antibodies. *Ann Neurol* 1999; 45:162-7.
- Dalmau JO, Posner JB. Paraneoplastic Syndromes. *Arch Neurol* 1999;56:405-8.
- Jaekle KA. Autoimmunity in Paraneoplastic Neurological Syndromes: Closer to the Truth?. *Ann Neurol* 1999;45:143-5.
- Moll JWB, Vecht CJ. Immune diagnosis of paraneoplastic neurological disease. *Clin Neurol Neurosurg* 1995;97:71-81.
- Moll JWB, Antoine JC, Brashear HR ve ark. Guidelines on the detection of paraneoplastic anti-neuronal-specific antibodies: Report from the Workshop to the Fourth Meeting of the International Society of Neuroimmunology on paraneoplastic neurological disease, held October 22-23, 1994, in Rotterdam, The Netherlands. *Neurology* 1995;45:1937-41.
- Mandel S. Paraneoplastic syndromes, How to recognize the remote neurologic effects of cancer. *Postgraduate Medicine* 1989;85: 141-52.
- Graus F, Abos J, Roquer J ve ark. Effect of plasmapheresis on serum and CSF autoantibody levels in CNS paraneoplastic syndromes. *Neurology* 1990;40:1621-3.
- Furieux HF, Reich L, Posner JB. Autoantibody synthesis in the central nervous system of patients with paraneoplastic syndromes. *Neurology* 1990;40:1085-91.
- Dalmau J, Furieux HM, Rosenblum MK ve ark. Detection of the anti-Hu antibody in specific regions of the nervous system and tumor from patients with paraneoplastic encephalomyelitis/ sensory neuropathy. *Neurology* 1991;41:1757-64.
- Darnell RB. The Importance of Defining the paraneoplastic neurologic disorders. *The New England Journal of Medicine* 1999;340:831-33.
- Budde-Steffen C, Anderson NE, Rosenblum M. ve ark. An antineuronal Autoantibody in Paraneoplastic Opsoclonus. *Ann Neurol* 1988;23:528-31.
- Cassado JL, Gil-Peralta A, Graus F ve ark. Anti-Ri antibodies associated with opsoclonus and progressive encephalomyelitis with rigidity. *Neurology* 1994;44:1521-2.
- Luque FA, Furieux HM, Ferziger R ve ark. Anti-Ri: An Antibody Associated with Paraneoplastic Opsoclonus and Breast Cancer. *Ann Neurol* 1991;29:241-51.
- Hughes M, Ahern V, Kefford R ve ark. Paraneoplastic Myelopathy at Diagnosis in a Patient with Pathologic Stage 1A Hodgkin Disease. *Cancer* 1992;70:1598-600.
- Graus F, Dalmau J, Reñé R. ve ark. Anti-Hu antibodies in patients with small-cell lung cancer: association with complete response to therapy and improved survival. *J Clin Oncol* 1997;15:2866-72.
- Abrey LE, Askanas V. Association of myasthenia gravis with extrathymic Hodgkin's lymphoma: Complete resolution of myasthenic symptoms following antineoplastic therapy. *Neurology* 1995;45:1019.
- Anderson NE, Budde-Steffen C, Wiley RG ve ark. A variant of the anti-Purkinje cell antibody in a patient with paraneoplastic cerebellar degeneration. *Neurology* 1988;38:1018-26.
- Dalmau J, Furieux HM, Gralla RJ ve ark. Detection of the anti-Hu antibody in the serum of patients with small cell lung cancer a quantitative western blot analysis. *Ann Neurol*. 1990; 27:544-52.
- Sakai K, Gofuku M, Kitagawa Y ve ark. A hippocampal protein associated with paraneoplastic neurologic syndrome and small cell lung carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun*. 1994;199:1200-8.
- Uchuya M, Graus F, Vega F ve ark. Intravenous immunoglobulin treatment in paraneoplastic neurological syndromes with antineuronal autoantibodies. *J Neurol Neurosurg Ps* 1996;60:386-92.
- Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of neurology. Assessment of plasmapheresis. *Neurology* 1996;47:840-3.