

ARAŞTIRMA MAKALESİ

Makale No: 92

Nöronal Yüzey Otoantikorlarının Tespitinde Kullanılan Ticari Fikse Hücre, In House-Canlı Hücre ve Doku Temelli Testlerin Karşılaştırılması

Comparison of Commercial Fixed and In-House Tissue-Based and Live Cell-Based Assays for the Detection of Common Neuronal Surface Autoantibodies

Elif ŞANLI¹, Zerrin KARAASLAN¹, Cem İsmail KÜÇÜKALİ¹, Merve AKTAN SÜZGÜN², Ferda İLGEN USLU³,
Hande KARPÜZOĞLU⁴, Abdurrahman Fatih AYDIN⁴, Mesude TÜTÜNCÜ⁵, Recai TÜRKOĞLU⁶, Tülin AKTÜRK⁷,
Semih BİLGİLİ⁷, Birgül BAŞTAN TÜZÜN⁸, Ayla ÇULHA OKTAR⁸, Tuncay GÜNDÜZ⁹, Murat KÜRTÜNCÜ⁹,
Betül BAYKAN¹⁰, Nerses BEBEK⁹, Uğur UYGUNOĞLU², Vuslat YILMAZ¹, Erdem TÜZÜN¹

¹İstanbul Üniversitesi Aziz Sançar Deneyel Tıp Araştırma Enstitüsü, Sinirbilim Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁴İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

⁵Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Bakırköy Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

⁶İstanbul Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

⁷İstanbul İl Sağlık Müdürlüğü, Kartal Dr. Lütfi Kırdar Şehir Hastanesi, Nöroloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

⁸Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Nöroloji Kliniği, İstanbul, Türkiye

⁹İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

¹⁰EMAR Tıp Merkezi, Nöroloji Bölümü, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Giriş ve Amaç: Otoimmün ensefalit (OE), serum ve/veya beyin omurilik sıvısında (BOS) nöronal yüzey antikorlarının (Abs) saptanmasıyla teşhis edilir. Fikse edilmiş hücrelerin kullanıldığı ticari biyoçip tabanlı hücre temelli test (HTT) ve canlı hücrelerin kullanıldığı HTT'ler tutarsız sonuçlar verebilir. Tanı ve tedaviye yanıtla ilişkili faktörleri belirlemek için, uyumsuz HTT sonuçları olan OE hastalarının özelliklerini ayrıntılı olarak aydınlatmayı amaçladık.

Yöntem: Fikse HTT ile yapılan rutin taramada N-metil-D-aspartat reseptörü (NMDAR), lösin bakımından zengin glioma inaktif 1 (LG1), kontaklin ilişkili protein benzeri 2 (CASPR2)-Abs pozitif bulunan toplam 45 hasta, in-house canlı HTT ve doku temelli test (DTT) ile tekrar değerlendirildi. Serum nörofilament hafif zincir (NFL) düzeyleri ölçüldü ve immünoterapiye yanıt 36,9±7,8 aylık bir takip döneminde değerlendirildi.

Bulgular: Hem fikse hem de canlı HTT/DTT'de pozitif çıkan 30 hasta, limbik semptomlar ve OE'yi düşündürülen EEG/MRG özellikleri gösterme eğilimi sergiledi. Buna karşılık, sadece fikse HTT pozitifliği olan 15 hastanın çoğu OE kriterlerini

karşılamadı. Canlı HTT/DTT pozitifliği, immünoterapiye yanıtı veya eşlik eden kanserleri öngörmedi. Fikse HTT pozitif kategorisindeki bazı hastalar, otoimmün ensefalopati ve yüksek NFL düzeylerini kuvvetle düşündürülen özellikler sergiledi. Daha düşük hastalık şiddeti, viral prodromal bulguların varlığı, otonomik semptomların yokluğu ve yüz diskinezi olmaması tedaviye yanıtla ilişkiliydi.

Sonuç: Canlı HTT/DTT, fikse hücre temelli testlere göre daha yüksek tanısal doğruluk sergilemiş ve yalancı pozitif antikör saptanma olasılığını önemli ölçüde azaltmıştır. Pozitif canlı HTT/DTT sonuçları, kesin OE kriterleri ile güçlü bir şekilde örtüşmektedir. Ancak, canlı HTT ve NFL sonuçları immünoterapiye yanıtı öngörmeye ve eşlik eden kanserleri tanımlamada başarısız olmuştur. Bu durumun, muhtemelen canlı HTT/DTT negatif kategorisindeki bazı hastaların immünoterapiye yanıt veren nöroenflamatuvar bozukluklara sahip olmasından kaynaklandığı varsayılmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Hücre temelli test, n-metil-D-aspartat reseptörü, nörofilament hafif zinciri, otoimmün ensefalit, otoimmünite

ABSTRACT

Introduction: Autoimmune encephalitis (AIE) is diagnosed through detection of neuronal-surface antibodies (Abs) in serum and/or cerebrospinal fluid (CSF). Commercial biochip-based cell-based assay (CBA) using fixed cells and in-house CBAs using live cells may give incongruent results. We aimed to shed further light on features of AIE patients with discordant CBA results to establish factors related with diagnosis and treatment-response.

Methods: A total of 45 patients found positive for N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR), leucine rich glioma inactivated 1 (LG1), contactin-associated protein-like 2 (CASPR2)-Abs on routine screening done with fixed-CBA, were further tested using in-house live-CBA and tissue-based assay (TBA). Serum neurofilament light chain (NFL) levels were measured and response to immunotherapy was assessed in a follow-up period of 36.9±7.8 months.

Results: Thirty patients who were positive on both fixed and live-CBA/TBA, showed trends towards displaying limbic symptoms and EEG/MRI features suggestive of AIE. By contrast, most of the 15 patients with only fixed-CBA positivity failed to fulfill

AIE criteria. Positivity on live CBA/TBA did not predict response to immunotherapy or coexisting cancers. Some patients in the fixed-CBA positive category exhibited features highly suggestive of autoimmune encephalopathy and elevated NFL levels. Lower disease severity, presence of viral prodromal findings, absence of autonomic symptoms and facial dyskinesia were associated with treatment response.

Conclusion: Live CBA/TBA demonstrated higher diagnostic accuracy than fixed cell-based assays and substantially reduced the likelihood of false-positive antibody detection. Positive live-CBA/TBA results strongly coincide with definite AIE criteria. However, live CBA and NFL results fail to predict response to immunotherapy and identify coexisting cancers. This is putatively because some patients in the live-CBA/TBA negative category likely have immunotherapy-responsive neuroinflammatory disorders.

Keywords: Autoimmune encephalitis, autoimmunity, cell-based assay, n-methyl-D-aspartate receptor, neurofilament light chain.

Cite this article as: Şanlı E, Karaaslan Z, Küçükali Cİ, Aktan Süzgün M, İlgen Uslu F, Karpuzoğlu H et al. Comparison of Commercial Fixed and In-House Tissue-Based and Live Cell-Based Assays for the Detection of Common Neuronal Surface Autoantibodies. Arch Neuropsychiatry 2026;63:590–597. doi: 10.29399/npa.29293

Öne Çıkan Noktalar

- Canlı HTT/DTT pozitifliği kesin otoimmün ensefalit kriterleriyle örtüşmektedir.
- Fikse HTT, sık görülen nöronal yüzey antikorlarında yalancı pozitiflik gösterebilir.
- Canlı HTT ve serum NFL düzeyi tedavi yanıtını veya kanser riskini öngörmemektedir.

GİRİŞ

Otoimmün ensefalit (OE), hızlı ilerleme ve nöronal yüzey antijenlerini hedefleyen serum/beyin omurilik sıvısı (BOS) antikorları (Ab) ile karakterize bir grup enflamatuvar nörolojik bozukluğu kapsar (1). Otoimmün ensefalit tanısı büyük ölçüde bu antikorların saptanmasına dayanmaktadır. Bununla birlikte, şu anda kullanılan ticari test kitleri potansiyel olarak yanlış pozitif ve yanlış negatif sonuçlar verebilmekte ve antikor pozitifliği, OE tanı kriterlerini karşılamayan vakalarda da tespit edilebilmektedir (2-5). Bu, tanı ve tedavi süreçlerinde zorluklara ve hatalara yol açabilir. Birçok hastalık OE'ye benzeyebilir ve bu sözde "OE taklitleri"nde yanlış pozitif antikor sonuçları ve ardından immünoterapi uygulanması ciddi yan etkilere veya tanıda gecikmelere yol açabilir. Öte yandan, alta yatan tanımlanabilir bir nedeni olmayan OE taklitlerinin %56'ya kadarı immünoterapiye olumlu yanıt verebilir (2). Bu gözlemler, antikor tespit yöntemlerinin geliştirilmesini ve OE ile OE taklitçilerinde tedaviye yanıt ve kanser birlikteliği ile ilişkili faktörlerin daha iyi anlaşılmasını gerektirmektedir.

Otoimmün ensefalit tanısında altın standart, ilgilenilen hedef nöronal yüzey otoantijenini eksprese eden canlı insan embriyonik böbrek 293T (HEK293T) hücrelerinin kullandığı canlı hücre temelli test (HTT) ile hastaların BOS'unda nöronal yüzey antikorlarının saptanmasıdır (6). Bununla birlikte, dünya genelindeki çoğu klinik merkezde bu canlı HTT'lerin bulunmaması nedeniyle, OE tanısı çoğunlukla fikse edilmiş HEK293T hücrelerini kullanan ticari olarak satılan biyoçip tabanlı testlerle gerçekleştirilmektedir. Şimdiye kadar sadece az sayıda çalışma, N-metil-D-aspartat reseptörü (NMDAR), lösin bakımından zengin glioma inaktif 1 (LG1), kontaklin ilişkili protein benzeri 2 (CASPR2) ve gama-aminobütirik asit B reseptörü (GABABR) antikorları için fikse ve canlı HTT'lerin etkinliğini karşılaştırmıştır. Hasta örneklerinin çoğunluğu her iki yöntemle de uyumlu sonuçlar veriyor gibi görünse de hastaların önemli bir kısmında tutarsız sonuçlar elde edilebilmektedir (3-5). Ayrıca, her iki HTT'nin de immünoterapi ve kanser taraması kararlarında önemli eksiklikleri olduğu görülmektedir.

Bunedenle, OE vakalarında tanı ve tedaviyi etkili bir şekilde yönlendirebilecek klinik ve laboratuvar kriterleri oluşturmayı ve nörolojik hastalıklarda anti-nöronal antikor pozitifliğini öngören mevcut kriterlerin geçerliliğini test etmeyi amaçladık. En sık görülen üç nöronal yüzey antikor (NMDAR, LG1 ve CASPR2 antikorları) için tasarlanmış ticari fikse ve *in-house* canlı HTT'ler; antikor saptama oranı, klinik ve demografik özelliklerle ilişki, immünoterapiye yanıt ve OE tanısına uyum açısından karşılaştırılmıştır (6).

YÖNTEM

Hastaların Çalışmaya Dâhil Edilmesi

2017-2025 yılları arasında laboratuvarımıza OE ayırıcı tanısı için gönderilen hastaların serum ve BOS örnekleri, NMDAR, α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionik asit reseptörü (AMPA1 ve 2), LG1, CASPR2, GABABR ve dipeptidil amino peptidaz benzeri protein

6 (DPPX) antikorları için standart bir ticari fikse HTT (Autoimmune Encephalitis Mosaic; FA 112 d-1010-6; Euroimmun, Luebeck, Almanya) ile ve glutamik asit dekarboksilaz (GAD) antikorları için ELISA (EA 1022-9601-2; Euroimmun, Luebeck, Almanya) ile taranmıştır. Üreticinin önerisi doğrultusunda BOS sulandırılmadan, serumlar 1/10 oranında seyreltilerek test edildi. Hastaların klinik özelliklerine kör olan iki bağımsız uzman tarafından her örnek için 0 ile 4 arasında bir ölçekte (0: bağlanma yok; 1: zayıf; 2: orta; 3: güçlü; 4: çok güçlü bağlanma) antikor pozitiflik skoru belirlenmiş ve uyumsuzluklar fikir birliği ile çözülmüştür. Toplam 208 hasta NMDAR, LG1 ve CASPR2 antikorları için pozitif bulunmuş ve bu hastaların hiçbirinde birden fazla antikor pozitifliği saptanmamıştır. Arşivlerimizde eşli serum/BOS örnekleri bulunan ve yeterince ayrıntılı klinik öykü ile takip verisine sahip olan bu hastaların 45'i çalışmamıza dâhil edilmiş ve daha önce önerilen tanı kılavuzlarına göre kesin, olası (probable) ve muhtemel (possible) OE olarak sınıflandırılmıştır (6). Dâhil edilen tüm hastaların subakut başlangıcı üç aydan kısa, ortalama ($\pm$ standart sapma) takip süresi 36,9 $\pm$ 7,8 ay (aralık: 14-192 ay) olarak kaydedilmiş ve tüm hastalarda ayrıntılı ayırıcı tanı prosedürlerinden sonra potansiyel alternatif nedenler dışlanmıştır.

Demografik özelliklere, klinik semptomlara ve destekleyici laboratuvar bulgularına ek olarak, takip süresince maksimum modifiye Rankin ölçeği (mRS) skoru, immünosupresif tedaviye yanıt, tedaviye dirençli nöbetlerin varlığı ve eşlik eden hastalıklar kaydedilmiştir (Tablo 1). Otuz sekiz hasta immünoterapi için onay verdi ve birinci basamak immünoterapiye (yani, intravenöz puls metilprednizolon ve intravenöz immünoglobulin veya plazma değişimi) yanıtın değerlendirilmesi için ayrıntılı takip verilerine sahipti. Immünoterapiye yanıt, tam fonksiyonel iyileşme (nihai mRS=0) veya takip süresindeki maksimum mRS skorundan en az üç puanlık bir düşüşe karşılık gelen, klinik olarak anlamlı bir nörolojik düzelme şeklinde tanımlanmıştır. Nöbet tedavisine direnç, iki veya daha fazla antiepileptik ilaç kullanılmasına rağmen klinik nöbet aktivitesinin baskılanmaması olarak tanımlanmıştır. Çalışma, kurumsal Etik Kurul tarafından onaylanmış ve tüm katılımcılar yazılı bilgilendirilmiş onamlarını vermiştir. Çalışma, Helsinki Bildirgesi'nin etik ilkelerine uygun olarak yürütülmüştür.

In-House Canlı HTT

Tüm örnekler, herhangi bir immünoterapiye başlamadan önce OE'nin aktif evresinde toplanmış ve kullanılabilecek kadar -80°C'de saklanmıştır. Canlı HTT, insan NMDAR-EGFP, LG1-EGFP ve CASPR2-EGFP eksprese eden HEK293T hücreleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Transfekte edilen hücreler, N-2-hidroksietil piperazin-N-2-etan sülfonik asit (HEPES) ve %5 sıvır serum albümini (BSA) içeren Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) içinde seyreltilmiş serum (NMDAR için 1:20; LG1 için 1:20; CASPR2 için 1:100) ve BOS (her antijen için 1:2 seyreltme oranı) örnekleri ile oda sıcaklığında bir saat inkübe edilmiştir. Inkübasyonun ardından hücreler, PBS içinde %4 PFA ile 10 dakika fikse edilmiş, yıkanmış ve oda sıcaklığında 45 dakika boyunca Alexa Fluor 568 keçi anti-insan IgG sekonder antikor (1:750, A-21090, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) ile inkübe edilmiştir. Yıkamaldan sonra, nükleer boyama için 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) uygulanmıştır. Antijen eksprese eden HEK293T hücrelerine spesifik IgG bağlanmasının varlığını değerlendirmek için floresan mikroskobu (CTR6000, Leica, Wetzlar, Almanya) kullanılmıştır.

In-House Doku Temelli Test (DTT)

Doku temelli test için immünohistokimyasal boyama, vaka örneklerinde anti-nöronal antikor taraması amacıyla %4 paraformaldehit (PFA) ile fikse edilmiş sıçan beyni kesitlerinde (10 μ m kalınlığında) gerçekleştirilmiştir. Ardışık %0,3 hidrojen peroksit ve %5 normal keçi serumu (NGS) blokajından sonra, kesitler hasta örnekleri ile (serum için 1:200; BOS için 1:2) +4°C'de gece boyunca inkübe edilmiştir. Ertesi gün, yıkama adımlarından sonra, oda sıcaklığında bir saat boyunca sekonder biyotinli keçi anti-insan immünoglobulin G (IgG) (1:750, BA-3000, Vector Laboratories, Newark, CA, USA) antikorunu uygulanmıştır. Avidin-biyotin

Tablo 1. Hem canlı hem de fikse hücre temelli testlerde (HTT) antikor saptanan hastalar ile sadece fikse HTT pozitif olan hastaların klinik özelliklerinin karşılaştırılması

	Canlı ve Fikse HTT Pozitif Vakalar (n=30)	Sadece Fikse HTT Pozitif Vakalar (n=15)	p değeri
Yaş	51,9±18,9	49,7±18,7	0,359
Cinsiyet	17 erkek	9 erkek	0,831
Fikse HTT ile BOS'ta anti-nöronal antikor pozitifliği	15	7	0,833
Antikor pozitiflik skoru	1/2-19 3/4-11	1/2-13 3/4-2	0,103
Anti-nöronal antikor tipi	CASPR2-4 LG11-9 NMDAR-17	CASPR2-4 LG11-1 NMDAR-10	0,163
Otoimmün ensefalit kriterlerine göre tanı	21 - kesin (definite) 9 - muhtemel (possible) 0 - ensefalit değil	0 - kesin (definite) 4 - muhtemel (possible) 11 - ensefalit değil	<0,001
Viral prodromal bulgular	3	3	0,352
Kısa süreli bellek kaybı	23	4	0,001
Mental durum değişikliği	15	1	0,004
Katatoni	1	1	0,609
Psikiyatrik semptomlar	22	3	0,001
Otonomik semptomlar	5	1	0,352
Hareket bozuklukları	8	2	0,311
Yüz diskinezi	3	0	0,205
Epileptik nöbetler	19	3	0,006
Miyoklonik nöbetler	5	0	0,093
Jeneralize tonik-klonik nöbetler	15	3	0,053
Fokal nöbetler	11	0	0,007
Status epileptikus	5	2	0,771
Tedaviye dirençli nöbetler	6	0	0,063
Maksimum mRS skoru	2,6±1,8	2,1±1,1	0,206
İmmünoterapiye olumlu yanıt*	18/26	5/12	0,106
Eşlik eden hastalık	4 Kanser 3 HSV ensefaliti* 2 Otoimmün hastalıklar 21 Yok	2 Kanser 0 HSV ensefaliti 1 Otoimmün hastalıklar 12 Yok	0,651
Anormal EEG bulguları**	23	3	<0,001
EEG'de periyodik dalga aktivitesi	2	1	>0,999
EEG'de fotik stimülasyona anormal yanıt	6	1	0,245
EEG'de yaygın yavaş dalga aktivitesi	18	3	0,011
EEG'de yaygın keskin/diken dalga aktivitesi	4	0	0,138
EEG'de yaygın yavaş veya keskin/diken dalga aktivitesi	20	3	0,003
MRG'de bilateral temporal lob lezyonları	24	1	<0,001
BOS pleositozu (>5 mm ³)	14	3	0,082
BOS hücre sayısı (hücre/mm ³)	24,9±16,4	162,3±206,3	0,184
Serum nörofilament hafif zincir (pg/ml)	41,1±27,9	111,0±91,4	0,020

Parametrik değişkenler ortalama ± standart sapma olarak belirtilmiştir.

* İmmünoterapi 38 vakaya uygulanmıştır.

** Periyodik dalga aktivitesi, fotik stimülasyona anormal yanıt, yaygın yavaş dalga, yaygın keskin/diken dalga aktivitesinden bir veya daha fazlasının varlığı.

Bu üç hastaya HSV sonrası otoimmün ensefalit tanısı konmuştur.

Kalın yazılan karakterler istatistiksel olarak anlamlı p değerlerini göstermektedir.

BOS: beyin omurilik sıvısı; mRS: modifiye Rankin skalası; HSV: herpes simpleks virüsü.

kompleksi ve 3,3'-diaminobenzidin (DAB) (ZH0306, Vector Laboratories, Newark, CA, USA) ile kromojenik tespitin ardından kesitler hematoksilan ile boyanmış ve kapatılmıştır. Her bir nöronal yüzey antikorunun boyanma paternleri, özellikle hipokampus bölgesi için, mikroskop altında (CTR6000, Leica, Wetzlar, Almanya) değerlendirilmiştir.

Serum NFL Düzeyleri

Nörofilament hafif zincir düzeyleri, üreticinin talimatlarına göre Siemens Healthineers Atellica Analizörü (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY, USA) ile ölçülmüştür. Üretici tarafından önerildiği üzere,

13,9 pg/ml'den yüksek serum NFL düzeyleri yüksek olarak kabul edilmiştir. Bu testin NFL ölçüm sonuçlarının, serum NFL ölçümleri için kullanılan diğer testlerle önemli ölçüde korelasyon sergilediği saptanmıştır (7). Tüm testler, test personeli klinik tanıya kör olacak şekilde yürütülmüştür.

İstatistiksel Analiz

İki grup arasındaki karşılaştırmalar, gerektiğinde Mann-Whitney U (mRS skoru), Student's t-testi (yaş, serum NFL düzeyleri, BOS hücre sayısı) ve ki-kare (kalan tüm kategorik değişkenler) kullanılarak gerçekleştirildi. p <0,05 değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Nöronal Yüzey ve Sinaps Antikorları Taramasının Sonuçları

Fikse HTT kullanılarak sırasıyla 27, 10 ve sekiz hastada NMDAR, LGI1 ve CASPR2 antikorları tanımlandı. Kırk beş hastanın hiçbirinde AMPAR1/2, GABABR, DPPX ve GAD antikorları pozitif bulunmadı.

In-house canlı HTT, 30 (%67) hastada NMDAR, LGI1 ve CASPR2 antikor pozitifliğini doğruladı. Bu 30 hasta arasında, fikse HTT ile 17 hastada NMDAR antikor (yedi serum ve BOS, beş sadece BOS, beş sadece serum), dokuz hastada LGI1 antikor (bir serum ve BOS, bir sadece BOS, yedi sadece serum) ve dört hastada CASPR2 antikor (bir serum ve BOS, üç sadece serum) bulundu. Canlı HTT, fikse HTT'de sadece NMDAR antikor seropozitifliği olan dört hastanın BOS'unda NMDAR antikoru (canlı HTT ile 11 serum ve BOS, beş sadece BOS, bir sadece serum) ve fikse HTT'de sadece CASPR2 antikor seropozitifliği olan iki hastanın BOS'unda CASPR2 antikoru (canlı HTT ile üç serum ve BOS, bir sadece serum) saptadı. *In-house* DTT, canlı HTT ile belirlenen ilgili NMDAR, LGI1 ve CASPR2 antikor pozitif hastalarda daha önce tanımlanmış olan (8,9) karakteristik boyanma paternlerini gösterdi. Canlı HTT ve DTT sonuçları arasında hiçbir uyumsuzluk yoktu.

Geriye kalan 15 (%33) fikse HTT pozitif hastada, NMDAR (dört sadece serum, altı serum ve BOS), LGI1 (1 sadece serum) ve CASPR2 (üç sadece serum, bir serum ve BOS) antikorları için (Tablo 2) immün reaktivite canlı HTT ile doğrulanamadı. Benzer şekilde, *in-house* DTT de bilinen veya henüz karakterize edilmemiş IgG reaktivite paternleri ile uyumlu kayda değer bir boyanma göstermedi. Dondurulmuş sıçan beyni kesitlerindeki glial hücrelerle de bir reaktivite saptanmadı. Genel olarak, fikse HTT sonuçlarının canlı HTT/DTT çalışmalarıyla doğrulanamama oranları NMDAR, LGI1 ve CASPR2 antikorları için sırasıyla %37, %10 ve %50 idi.

Fikse ve Canlı HTT Pozitif Hastaların Karşılaştırılması

Sadece fikse HTT pozitifliği olan hastalar (n=15) ile fikse/canlı HTT antikor pozitifliği olan hastalar (n=30) arasında yaş, cinsiyet, antikor pozitiflik skorları, BOS örneklerinde antikor pozitifliği ve antikor tipleri açısından anlamlı bir fark yoktu. Bununla birlikte, canlı HTT ile pozitif sonuç gösteren hastalar, fikse HTT ile daha yüksek antikor pozitiflik skorları sergileme eğilimi gösterdi. Canlı HTT sonuçları pozitif olan anlamlı derecede daha fazla sayıda hasta kesin OE kriterlerini karşıladı (n=21) ve tüm canlı HTT pozitif hastalar ya kesin ya da muhtemel (n=9) OE kriterlerini karşıladı. Buna karşılık, sadece fikse HTT pozitif olan hastaların sadece dördü

Tablo 2. Fikse hücre temelli test (HTT) ile anti-nöronal antikorları pozitif bulunan ancak canlı HTT veya doku temelli test (DTT) ile saptanamayan vakaların demografik ve klinik özellikleri

Vaka	Yaş/ Cinsiyet	Serum Ab/skoru*	BOS Ab/skoru*	VP	Limbik septomlar	Diğer septomlar	MRG	BOS	EEG	Eşlik eden hastalık	İT'ye yanıt
1	36/E ⁺	NMDAR+++	(-)	Yok	Yok	Görme kaybı	BL oksipital lezyonlar	Normal	Normal	Yok	Yanıt var
2	42/E ⁺	NMDAR+++	(-)	Var	Yok	Ataksi	Serebellar, beyin sapı lezyonları	Normal	Normal	Yok	Yanıt var
3	52/K ⁺	CASPR2+	CASPR2+	Yok	Yok	Ataksi	Normal	Normal	Normal	Meme Ka	Yanıt var
4	28/K ⁺	NMDAR+	NMDAR++	Var	Yok	Görme kaybı	Meningeal kontrast tutulumu	400 hücre/ mm ³	Yaygın yavaş dalgalarda	Over teratomu	Yanıt var
5	62/E ⁺	NMDAR+	(-)	Var	Yok	Ataksi	Serebellar, beyin sapı lezyonları	57 hücre/ mm ³	Normal	Yok	Yanıt var
6	61/E ⁺	CASPR2+	(-)	Yok	Yok	Parkinsonizm	Normal	Normal	Normal	Yok	Yanıt yok
7	58/K ⁺	LGI1+	(-)	Yok	KS bellek kaybı	Yok	Normal	Normal	Yaygın yavaş dalgalarda	SLE	Yanıt yok
8	28/K ⁺	NMDAR+	NMDAR+	Yok	KS bellek kaybı, psikoz	Katatonisi	Normal	Normal	Normal	Yok	Yanıt yok
9	50/K ⁺	NMDAR+	(-)	Yok	Yok	Ataksi	Normal	Normal	Normal	Yok	Tedavi yok
10	28/E ⁺	NMDAR+	NMDAR+	Yok	Yok	Ataksi	Normal	Normal	Normal	Yok	Tedavi yok
11	80/K ⁺	NMDAR+	NMDAR+	Yok	Yok	Distoni	Normal	Normal	Normal	Yok	Tedavi yok
12	48/E ⁺⁺	CASPR2+	(-)	Yok	Psikoz	Yok	BL medial temporal lezyonlar	Normal	Normal	Yok	Yanıt yok
13	69/E ⁺⁺	NMDAR++	NMDAR++	Yok	KS bellek kaybı, koma, ilk nöbet, GTKN-SE	Otonomik septomlar	Normal	30 hücre/ mm ³	Yaygın yavaş dalgalarda, sağ temporal periyodik dalgalarda, fotik stimülasyona anormal yanıt	Yok	Yanıt yok
14	24/E ⁺⁺	CASPR2+	(-)	Yok	KS bellek kaybı, ilk nöbet, GTKN- SE	Yok	Normal	Normal	Normal	Yok	Yanıt yok
15	80/E ⁺⁺	NMDAR+	NMDAR+	Yok	Psikoz, ilk nöbet, GTKN	Yok	Normal	Normal	Normal	Yok	Yanıt yok

* Fikse HTT ile antikor bağlanma skorları (-, bağlanma yok; +, zayıf; ++, orta; +++, güçlü bağlanma)

† Klinik özellikleri kesin veya muhtemel otoimmün ensefalit kriterlerini karşılamayan vakalar.

†† Klinik özellikleri kesin değil ancak muhtemel otoimmün ensefalit kriterlerini karşılayan vakalar.

E: erkek; K: kadın; Ab: antikor; BOS: beyin omurilik sıvısı; Ka: kanser; SLE: sistemik lupus eritematozus; İT: immünoterapi; KS: kısa süreli; BL: bilateral; GTKN: jeneralize tonik klonik nöbetler; SE: status epileptikus; VP: viral prodromal bulgular.

muhtemel OE kriterlerini karşıladı ve geri kalan 11 hasta kesin, olası veya mümkün OE kriterlerini karşılamadı (Tablo 2).

Canlı HTT pozitif hastalar; kısa süreli bellek kaybı, mental durum değişikliği, psikiyatrik semptomlar, epileptik nöbetler, fokal nöbetler ve OE'yi düşündüren anormal EEG ve MRG bulgularını, sadece fikse HTT pozitif antikor sonuçları olan hastalara göre anlamlı derecede daha yüksek oranlarda gösterdi. Gruplar arasında maksimum mRS skorları ve immünoterapiye yanıt açısından anlamlı bir fark yoktu. Bununla birlikte, NMDAR antikor pozitif hastalar (3,0±1,0), LGI1/CASPR2 antikor pozitif hastalara göre anlamlı derecede daha yüksek mRS skorları sergiledi (1,8±1,5) (p=0,033).

Eşlik eden hastalık profilleri her iki grupta benzer olsa da herpes simpleks virüsü (HSV) ensefaliti sonrası durum sadece canlı HTT pozitif grupta saptandı (n=3). Benzer şekilde, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da yüz diskinezi, miyoklonik nöbetler, tedaviye dirençli nöbetler ve EEG'de yaygın keskin/diken dalga aktivitesi gibi bazı klinik özellikler sadece canlı HTT pozitif grupta bulundu. Beyin omurilik sıvısı pleositoz oranları ve

BOS hücre sayıları canlı ve fikse HTT pozitif gruplar arasında benzerken, pozitif canlı HTT sonuçları olan hastalar anlamlı derecede daha düşük serum NFL düzeyleri gösterdi (Tablo 2). Otuz canlı HTT pozitif hastanın 28'i ve 15 fikse HTT pozitif hastanın 12'si yüksek (>13,9 pg/ml) serum NFL düzeyleri gösterdi (p=0,180). Serum NFL düzeyleri, mRS skorları dâhil parametrik değişkenlerle korelasyon göstermedi.

Sadece Fikse HTT Pozitif Hastaların Özellikleri

Uyumsuz HTT sonuçları olan hastaları daha iyi karakterize etmek için, örnekleri fikse HTT'de pozitif ancak canlı HTT'de negatif bulunan hastaların klinik özelliklerine odaklandık (Tablo 2). Kesin veya olası OE kriterlerini karşılamayan hastalar çoğunlukla limbik semptomlardan ve OE'yi düşündüren destekleyici laboratuvar özelliklerinden yoksundu (Vaka 1-6, 9-11). Bununla birlikte, bu grubun bazı hastaları otoimmün ensefalopatiyi düşündüren limbik semptomlar (Vaka 7, 8, 12-15), bilateral medial temporal lezyonlar (Vaka 12), BOS pleositozu (Vaka 4, 5, 13), anormal yaygın EEG bulguları (Vaka 4, 7, 13), altta yatan kanserler ve immünoterapiye yanıt (Vaka 1-5) sergiledi. Vaka 4'ün bulguları (serum ve BOS'ta NMDAR antikor, meningeal kontrast tutulumu, BOS pleositozu,

Tablo 3. Fikse hücre temelli test (HTT) pozitif olan ve immünoterapiye iyi yanıt veren ve vermeyen hastaların klinik özelliklerinin karşılaştırılması*

	Yanıtlı (n=23)	Yanıtız (n=15)	p değeri
Yaş	51,8±13,4	50,3±22,6	0,410
Cinsiyet	14 erkek	8 erkek	0,646
Fikse HTT ile BOS'ta anti-nöronal antikor pozitifliği	10	8	0,552
Antikor pozitiflik skoru	1/2-16 3/4-7	1/2-11 3/4-4	0,802
Anti-nöronal antikor tipi	CASPR2-3 LGI1-7 NMDAR-13	CASPR2-3 LGI1-3 NMDAR-9	0,015
Otoimmün ensefalit kriterlerine göre tanı	12 - kesin (definite) 6 - muhtemel (possible) 5 - ensefalit değil	5 - kesin (definite) 7 - muhtemel (possible) 3 - ensefalit değil	0,395
Viral prodromal bulgular	6	0	0,031
Kısa süreli bellek kaybı	13	11	0,294
Mental durum değişikliği	8	7	0,464
Kataton	1	1	0,477
Psikiyatrik semptomlar	14	8	0,646
Otonomik semptomlar	1	4	0,014
Hareket bozuklukları	4	4	0,493
Yüz diskinezi	0	1	0,209
Epileptik nöbetler	11	8	0,740
Miyoklonik nöbetler	3	2	0,979
Jeneralize tonik-klonik nöbetler	8	7	0,464
Fokal nöbetler	5	5	0,428
Status epileptikus	2	4	0,137
Tedaviye dirençli nöbetler	3	3	0,502
Maksimum mRS skoru	1,8±0,9	3,6±2,0	0,010
Eşlik eden hastalık	4 Kanser 1 HSV ensefaliti* 2 Otoimmün hastalıklar 16 Yok	1 Kanser 1 HSV ensefaliti* 1 Otoimmün hastalıklar 12 Yok	0,785
Anormal EEG bulguları**	14	9	0,804
EEG'de periyodik dalga aktivitesi	1	2	0,315
EEG'de fotik stimülasyona anormal yanıt	3	3	0,565
EEG'de yaygın yavaş dalga aktivitesi	10	8	0,552
EEG'de yaygın keskin/diken dalga aktivitesi	1	1	0,754
EEG'de yaygın yavaş veya keskin/diken dalga aktivitesi	11	8	0,740
MRG'de bilateral temporal lob lezyonları	16	9	0,543
BOS pleositozu (>5 mm³)	10	6	0,832
BOS hücre sayısı (hücre/mm³)	62,7±119,5	32,5±19,6	0,226
Serum nörofilament hafif zincir (pg/ml)	63,8±64,0	73,8±80,4	0,376

Parametrik değişkenler ortalama ± standart sapma olarak belirtilmiştir.

* İmmünoterapi, fikse HTT pozitif 45 olgunun 38'ine uygulandı.

**Periyodik dalga aktivitesi, fotik stimülasyona anormal yanıt, yaygın yavaş dalga, yaygın keskin/diken dalga aktivitesinden bir veya daha fazlasının varlığı.

#Bu iki hastaya HSV sonrası (post-HSV) otoimmün ensefalit tanısı konuldu.

Kalın yazılan karakterler istatistiksel olarak anlamlı p değerlerini göstermektedir.

BOS: beyin omurilik sıvısı; mRS: modifiye Rankin skalası; HSV: herpes simpleks virüsü.

yaygın yavaş dalgalar, over teratomu ve immünoterapiye yanıt) özellikle paraneoplastik otoimmün meningoensefaliti düşündürüyordu. Bu bulgular over teratomunun eşlik edebileceği glial fibriller asidik protein astrositopatisi (10) ile uyumlu olsa da hastanın serum ve BOS'u DTT'de astrositik boyanma paterni vermedi. Benzer şekilde, yine serum/BOS NMDAR antikoru olan Vaka 13, olası (probable) anti-NMDAR ensefaliti kriterlerini karşıladı (6) ancak NMDAR eksprese eden HEK293T hücrelerinde veya dondurulmuş sıçan beyni kesitlerinde herhangi bir spesifik IgG reaktivitesi göstermedi.

İmmünoterapiye Olumlu Yanıt ile İlişkili Faktörler

Birinci basamak immünoterapi almış olan tüm hasta kohortu (n=38) analiz edildiğinde; daha yüksek maksimum mRS skoruna sahip, viral prodromal bulguları olan ve otonomik semptomları olmayan hastaların

immünoterapiye yanıt verme olasılığının daha yüksek olduğu belirlendi. Ayrıca, tedaviye yanıt vermeyen grupta NMDAR antikoru prevalansı biraz daha yüksekti; bunun nedeni muhtemelen NMDAR ensefaliti hastalarının maksimum mRS skorunun ($3,0 \pm 1,0$), LGI1/CASPR2 ensefaliti hastalarına göre ($1,8 \pm 1,5$, $p=0,033$) anlamlı derecede daha yüksek olmasıydı (Tablo 3). Hem fikse hem de canlı HTT ile nöronal antikor saptanan hastalar analiz edildiğinde de (n=26) tedaviye yanıtla benzer faktörler ilişkili bulundu. Daha yüksek maksimum mRS skoruna sahip, yüz diskinezisi olmayan ve otonomik semptomları olmayan hastaların immünoterapiye yanıt verme olasılığı daha yüksekti (Tablo 4). Demografik özellikler, antikor pozitiflik skorları, eşlik eden hastalıklar, limbik semptomlar, destekleyici laboratuvar bulguları ve NFL düzeyleri immünoterapiye yanıt ile ilişkili bulunmadı (Tablo 3, 4).

Tablo 4. Hem fikse hem de canlı hücre temelli test (HTT) pozitif olan ve immünoterapiye iyi yanıt veren ve vermeyen hastaların klinik özelliklerinin karşılaştırılması*

	Yanıtlı (n=18)	Yanıtız (n=8)	p değeri
Yaş	54,0±12,9	48,4±25,4	0,284
Cinsiyet	11 erkek	3 erkek	0,285
Fikse HTT ile BOS'ta anti-nöronal antikor pozitifliği	8	5	0,395
Antikor pozitiflik skoru	1/2-13 3/4-5	1/2-4 3/4-4	0,272
Anti-nöronal antikor tipi	CASPR2-2 LGI1-7 NMDAR-9	CASPR2-0 LGI1-2 NMDAR-6	0,407
Otoimmün ensefalit kriterlerine göre tanı	12 - kesin 6 - muhtemel	5 - kesin 3 - muhtemel	0,837
Viral prodromal bulgular	3	0	0,219
Kısa süreli bellek kaybı	13	7	0,393
Mental durum değişikliği	7	6	0,089
Katatoni	1	0	0,496
Psikiyatrik semptomlar	14	5	0,954
Otonomik semptomlar	1	3	0,037
Hareket bozuklukları	4	2	0,876
Yüz diskinezisi	0	2	0,027
Epileptik nöbetler	11	5	0,946
Miyoklonik nöbetler	2	2	0,365
Jeneralize tonik-klonik nöbetler	8	4	0,793
Fokal nöbetler	5	5	0,093
Epileptik status	2	2	0,365
Tedaviye dirençli nöbetler	3	3	0,245
Maksimum mRS skoru	1,6±0,7	4,3±2,0	0,005
Eşlik eden hastalık	2 Kanser 1 HSV ensefaliti* 2 Otoimmün hastalık 13 Yok	1 Kanser 1 HSV ensefaliti* 0 Otoimmün hastalık 6 Yok	0,741
Anormal EEG bulguları**	13	7	0,393
EEG'de periyodik dalga aktivitesi	1	1	0,539
EEG'de fotik stimülasyona anormal yanıt	3	2	0,619
EEG'de yaygın yavaş dalga aktivitesi	9	7	0,069
EEG'de yaygın keskin/diken dalga aktivitesi	2	1	0,918
EEG'de yaygın yavaş veya keskin/diken dalga aktivitesi	10	7	0,114
MRG'de bilateral temporal lob lezyonları	14	7	0,561
BOS pleositozu (>5 mm ³)	8	5	0,395
BOS hücre sayısı (hücre/mm ³)	21,3±12,0	33,0±21,9	0,159
Serum nörofilament hafif zinciri (pg/ml)	37,8±24,3	39,4±21,2	0,447

Parametrik değişkenler ortalama ± standart sapma olarak belirtilmiştir.

* İmmünoterapi, fikse HTT pozitif 45 olgunun 38'ine uygulandı.

** Periyodik dalga aktivitesi, fotik stimülasyona anormal yanıt, yaygın yavaş dalga, yaygın keskin/diken dalga aktivitesinden bir veya daha fazlasının varlığı.

Bu iki hastaya HSV sonrası otoimmün ensefalit tanısı konmuştur.

Kalın yazılan karakterler istatistiksel olarak anlamlı p değerlerini göstermektedir.

BOS: beyin omurilik sıvısı; mRS: modifiye Rankin skalası; HSV: herpes simpleks virüsü.

TARTIŞMA

Bulgularımız, nöronal yüzey antikorlarının saptanmasında canlı hücre ve doku temelli testlerin, fikse hücre temelli testlere göre daha yüksek tanılabilirlik sağladığını göstermektedir. Canlı HTT/DTT ile antikor varlığı doğrulanmış hastalar sıklıkla kesin OE kriterlerini karşılamış ve MSS enfeksiyonu ile uyumlu limbik semptomlar ve MRG/EEG/BOS özellikleri sergilemiştir (6). Buna karşılık, antikor pozitifliği yalnızca fikse HTT ile saptanan hastaların önemli bir kısmı OE tanı kriterlerini karşılamamıştır. Bu durum, fikse HTT'nin klinik olarak ilişkisiz veya yalancı pozitif sonuçlar verebileceğine dair önceki gözlemleri desteklemektedir. Dolayısıyla bulgularımız, yeni bir etno-coğrafi ortamda, canlı HTT/DTT sonuçlarının yerleşik tanı kriterleri ile entegrasyonunun, gerçek OE ile OE taklitleri arasındaki ayrımı iyileştirebileceğini doğrulamaktadır (3-5). Aksine hem canlı hem de fikse HTT'ler ile antikorları tanımlanan hastalar benzer tedavi yanıtı ve kanser oranları göstermiştir. Bu durum da canlı HTT'nin temel klinik değerinin tedavi yanıtını veya kanser riskini öngörmekten ziyade öncelikle tanılabilirliği artırma yönüne işaret etmektedir.

Fikse HTT'de, fiksatif madde hedef antijenin konformasyonunu değiştirebilir. Bu durum hastanın IgG bağlanma olasılığını ve testin genel duyarlılığını azaltır. Canlı HTT ve DTT'de antijenlerin doğal konformasyonunun korunması ise daha yüksek duyarlılıkla sonuçlanır. Dolayısıyla, canlı HTT/DTT'nin bu üstün yönünün, fikse HTT ile saptanamayan BOS antikorlarının tanımlanmasını sağlamış olması mümkündür. Dahası, önceki çalışmalarla (3,5) uyumlu olarak sonuçlarımız, en sık görülen üç nöronal yüzey antikorları olan NMDAR, LGI1 ve CASPR2 antikorları için fikse HTT'nin yalancı pozitiflik oranının %33 kadar yüksek olabileceğini göstermiştir. Bu durum, tanılabilirlik sürecinde antikor sonuçlarının ihtiyatla değerlendirilmesi ve klinisyenlerin her zaman klinik sendrom ile tanımlanan antikor tipi arasında bir ilişki araması gerektiği gerçeğini vurgulamaktadır.

Kesin OE kriterlerini karşılamayan ve canlı HTT/DTT negatif olan beş hastada, fikse HTT'nin BOS'ta antikor göstermesi, BOS'ta antikor saptanmasının yalancı pozitifliği mutlaka ortadan kaldırmadığını düşündürmektedir. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da canlı HTT/DTT pozitif hastalar fikse HTT'de daha yüksek antikor bağlanma skorları gösterme eğilimi sergilemiştir. Bu nedenle, fikse HTT ile zayıf-orta düzeyde bağlanma skoru gösteren ve OE kriterlerini karşılamayan hastalarda, antikor sonuçlarının canlı HTT ile doğrulanmasını öneriyoruz. Eşlik eden bozukluklara gelince, HSV ensefaliti öyküsü, sadece canlı HTT/DTT pozitif hastalarda bulunan tek etiyolojik özellikti ve bu nedenle OE tanısı için yardımcı bir destekleyici özellik olarak kullanılabilir. Eşlik eden otoimmün bozukluklar ve kanser, canlı HTT/DTT pozitif ve negatif hastalar arasında eşit derecede yaygındı. Dikkat çekici bir şekilde, sistemik lupus eritematozus öyküsü olan Vaka 7'de, incelenen antikorların hiçbirinin canlı HTT/DTT ile tanımlanamaması, önceki raporumuzla (11) uyumludur.

Destekleyici laboratuvar bulguları arasında, EEG'de yaygın yavaş dalgalar ve MRG'de bilateral temporal lezyonlar, canlı HTT/DTT pozitifliği ile yakından ilişkili faktörler olarak öne çıkmıştır. Ayrıca, yavaş ve keskin/diken dalga aktivitesine ek olarak periyodik aktivite ve fotik stimülasyona yanıt gibi geniş bir EEG anomalileri yelpazesinin incelenmesi, EEG'nin OE tanısında bir araç olarak duyarlılığını artırmıştır. Özellikle, canlı HTT/DTT pozitifliği olan hastalar fokal, miyoklonik, jeneralize tonik-klonik ve tedaviye dirençli nöbetlerin prevalansında artış eğilimi göstermiştir. Bu da bu özelliklerin OE tanı kriterlerinin bir parçası olabileceğini düşündürmektedir. Önceki bir yayınlara benzer olarak (2), BOS pleositozu hem canlı hem de fikse HTT pozitif hastalarda bulunmuştur ve bu nedenle enflamatuvar BOS özelliklerinin OE tanısındaki destekleyici etkisinin daha düşük olduğu düşünülebilir.

Özellikle, canlı HTT/DTT pozitif ve negatif hastalar immünoterapiye benzer bir yanıt göstermiştir. Bu durum sadece fikse HTT ile antikorları tanımlanan hastaların da immünsupresif tedaviye yanıt verebileceğini

düşündürmektedir. Tablo 2'deki fikse HTT pozitif hastaların daha yakından incelenmesi, hastaların önemli bir kısmının altta yatan kanser, viral prodromal bulgular, bilateral temporal lob lezyonları, BOS pleositozu, limbik semptomlar ve immünoterapiye olumlu yanıt gibi OE'yi düşündürülen özellikler sergilediğini ve Vaka 13'ün olası anti-NMDAR ensefaliti kriterlerini bile karşıladığını ortaya koymuştur. Olası otoimmün benzeri özelliklere sahip benzer canlı HTT negatif hastalar bildirilmiş ve yakın tarihli bir yayında bu kişiler olası nöroenflamatuvar bozukluğu olan hastalar olarak kategorize edilmiştir (2).

Nörofilament hafif zincir düzeylerinin OE'de arttığı iyi bilinmektedir ve bizim OE kohortumuzda da durum böyledir (12). İlginç bir şekilde, NFL düzeyleri fikse HTT pozitif grupta, OE kriterlerini karşılayan canlı HTT pozitif hastalara göre daha da yüksekti. Ayrıca, tedaviye yanıtı olan ve olmayan hastalar benzer NFL düzeyleri göstermiştir. Bu bulgular, NFL'nin OE'de tanılabilir ve prognostik bir biyobelirteç olarak kullanılabilirliğini azaltmaktadır. Hastalık aktivitesi ile NFL düzeyleri arasındaki korelasyon eksikliği zaten bildirilmiştir (12). Dahası, fikse HTT pozitif grupta yüksek BOS hücre sayıları ile artan NFL düzeyleri ve makul bir takip süresinde altta yatan etiyolojik bir faktörün tanımlanamaması, yukarıda tartışıldığı gibi, bu grubun en azından bazı hastalarının nöroenflamasyon kaynaklı bir nörodejenerasyon sürecinden geçiyor olabileceğini düşündürmektedir. Sıçan beyni kesitlerinin nöronları ve glial hücreleri ile kayda değer bir IgG reaktivitesinin olmaması, bu hastalarda humoral immüniteden ziyade hücrel immünitenin rol oynayabileceğini düşündürmektedir.

Son olarak, sadece fikse HTT ile tanımlanan serum/BOS antikorlarının, enflamasyon kaynaklı nöronal yıkım yoluyla salınan ve immün sisteme maruz kalan intrasellüler doğrusal epitoplarla reaksiyona giriyor olabileceğini ve aslında devam eden nöroenflamasyonun bir göstergesi olabileceğini speküle etmek uygun olabilir. Bu varsayım hem fikse hem de canlı HTT/DTT'de negatif olan, nörolojik semptomlara sahip bireylerin klinik, laboratuvar, tedavi yanıtı ve antikor saptama özelliklerinin karşılaştırılmasıyla doğrulanabilir. Böyle bir kontrol grubunun olmaması bu çalışmanın bir limitasyonudur. Bir diğer kısıtlılık ise, başlangıçta antikor pozitifliği tanımlanan hastaların sadece bir alt kümesinin çalışmaya dâhil edilmesinden kaynaklanan potansiyel seçim yanlılığıdır. Tarama döneminde 208 pozitif vaka saptanmış olmasına rağmen, mevcut analiz eşli serum/BOS örnekleri bulunan ve yeterince ayrıntılı klinik takip verilerine sahip 45 hastaya odaklanmıştır. Bu yaklaşım daha güvenilir bir klinik-radyolojik korelasyon kurulmasına olanak tanımış olsa da bulguların genellenebilirliğini sınırlayabilir. Ek olarak, verilerimiz retrospektif olarak toplanmıştır ve örneklem boyutu LGI1 ve CASPR2 gibi daha az yaygın antikorlar için sınırlı sayıydı.

Genel olarak sonuçlarımız, canlı HTT sonuçları ile kesin OE kriterleri arasında daha önce belirlenmiş olan örtüşmeyi doğrulamakta, daha önce önerilen OE ilişkili klinik ve laboratuvar özelliklerini valide etmekte ve OE'nin ayırıcı tanısında ve tedavi kararlarında potansiyel olarak yardımcı olabilecek yeni faktörler sunmaktadır. Bulgularımız ayrıca, OE olmayan ancak olası nöroenflamatuvar bozukluğu olan hastaların varlığını vurgulamakta ve immünoterapiye yanıt verme durumu için klinik kriterlerin ve yeni biyobelirteçlerin inovasyonuna duyulan ihtiyacı ortaya koymaktadır.

Etik Komite Onayı: Çalışma protokolü, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (tarih: 25/02/2022, sayı: 2022/338).

Bilgilendirilmiş Onam: Tüm hastalardan yazılı bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Dış Bağımsız.

Yazar Katkıları: Fikir- ÇİK, VY, ET; Tasarım- EŞ, ÇİK, VY, ET; Denetleme- ÇİK, VY, ET; Kaynaklar- ET, ÇİK; Malzemeler- EŞ, MAS, FİU, HK, MT, RT, TA, SB, BBT, AÇO, TG, MK, BB, NB, UU; Veri Toplanması ve/veya İşlemesi- EŞ, MAS, FİU, HK, MT, RT, TA, SB, BBT, AÇO, TG, MK, BB, NB, UU; Analiz ve/veya Yorum- EŞ, VY, ET, ZK, AFA, HK; Literatür Taraması- MAS, FİU, HK, MT, RT, TA, SB; Yazıyı Yazan- EŞ, ZK, MAS, FİU, HK, MT, RT, TA, SB, BBT, AÇO, TG, MK, BB, NB, UU, VY, ET; Eleştirel İnceleme- VY, MT, NB, BB, MK, ET.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansal Destek: Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (TSA-2022-39158, TOA-2021-37862, DPT-2019K12-149071, TDK-2024-40786).

Veri Erişilebilirlik Bildirimi: Nitelikli araştırmacıların talebi üzerine ve uygun malzeme transfer anlaşmalarının imzalanmasının ardından anonimleştirilmiş veriler paylaşılabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Homeyer MA, Falck A, Li LY, Prüss H. From immunobiology to intervention: pathophysiology of autoimmune encephalitis. *Semin Immunol.* 2025;78:101955. [\[Crossref\]](#)
2. Van Steenhoven RW, de Vries JM, Bruijstens AL, Paunovic M, Nagtzaam MM, Franken SC, et al. Mimics of autoimmune encephalitis: validation of the 2016 clinical autoimmune encephalitis criteria. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2023;10:e200148. [\[Crossref\]](#)
3. Kerstens J, Schreurs MWJ, de Vries JM, Neuteboom RF, Brenner J, Crijnen YS, et al. Autoimmune encephalitis and paraneoplastic neurologic syndromes: a nationwide study on epidemiology and antibody testing performance. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm.* 2024;11:e200318. [\[Crossref\]](#)
4. Goncalves D, Benaiteau M, Rogemond V, Closs S, Pinto AL, Dhairi M, et al. Comparison of commercial and in-house tissue-based and cell-based assays for the detection of autoantibodies targeting neuronal surface proteins: a prospective cohort study. *Front Immunol.* 2025;16:1563877. [\[Crossref\]](#)
5. Gastaldi M, Mariotto S, Giannoccaro MP, Iorio R, Zoccarato M, Nosadini M, et al. Subgroup comparison according to clinical phenotype and serostatus in autoimmune encephalitis: a multicenter retrospective study. *Eur J Neurol.* 2020;27:633–643. [\[Crossref\]](#)
6. Graus F, Titulaer MJ, Balu R, Benseler S, Bien CG, Cellucci T, et al. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet Neurol.* 2016;15:391–404. [\[Crossref\]](#)
7. Ashrafzadeh-Kian S, Figdore D, Larson B, Deters R, Abou-Diwan C, Bornhorst J, et al. Head-to-head comparison of four plasma neurofilament light chain (NFL) immunoassays. *Clin Chim Acta.* 2024;561:119817. [\[Crossref\]](#)
8. van Coevorden-Hameete MH, Titulaer MJ, Schreurs MWJ, de Graaff E, Sillevs Smitt PAE, Hoogenraad CC, et al. Detection and characterization of autoantibodies to neuronal cell-surface antigens in the central nervous system. *Front Mol Neurosci.* 2016;9:37. [\[Crossref\]](#)
9. Nagata N, Kanazawa N, Mitsuhata T, Iizuka M, Nagashima M, Nakamura M, et al. Neuronal surface antigen-specific immunostaining pattern on a rat brain immunohistochemistry in autoimmune encephalitis. *Front Immunol.* 2022;13:1066830. [\[Crossref\]](#)
10. Shetty D, Brahmabhatt S, Desai A, Bathla G, Mohan S, Gupta V, et al. Glial fibrillary acidic protein astrocytopathy: review of pathogenesis, imaging features, and radiographic mimics. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2024;45:1394–1402. [\[Crossref\]](#)
11. Karaaslan Z, Ekizoglu E, Tektürk P, Erdağ E, Tüzün E, Bebek N, et al. Investigation of neuronal auto-antibodies in systemic lupus erythematosus patients with epilepsy. *Epilepsy Res.* 2017;129:132–137. [\[Crossref\]](#)
12. Lai QL, Cai MT, Li EC, Fang GL, Shen CH, Xu YF, et al. Neurofilament light chain levels in neuronal surface antibody-associated autoimmune encephalitis: a systematic review and meta-analysis. *Transl Psychiatry.* 2025;15:25. [\[Crossref\]](#)