

Diyabet Tanı ve Takibinde Geleneksel ve Yeni Biyokimyasal Belirteçler

Emel Şahin, Müfide Öncel

Mevlana Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Konya

Eur J Basic Med Sci 2014;4(3): 66-73

Received: 24-10-2014

Accepted: 03-12-2014

Traditional and Novel Biochemical Markers in Diagnosis and Monitoring of Diabetes

ABSTRACT

Diabetes with an increasing rate in all over the world, cause high rates of mortality and morbidity, besides high costs for medical treatment of the patients and workforce loss. Because the disease has individual and social effects, it should be diagnosed earlier as far as possible and establishment of necessary lifestyle changes is extremely important. For this purpose, fast, easy and inexpensive diagnostic approaches are obligatory. Scientists are seeking novel parameters for diagnosis of diabetes. Oral glucose tolerance test (OGTT) has been used in diagnosis of diabetes for many years, and cut-off values for glucose in this test are updated by WHO and ADA frequently. Probably, novel parameters suggested as alternative to OGTT will be used routinely by clinicians in the near future.

Key Words: Diabetes, diagnosis, monitoring, biochemical markers

ÖZET

Tüm dünyada, gün geçtikçe insidansı artan diyabet, bir yandan oldukça ciddi oranlarda morbidite ve mortaliteye yol açarken, diğer yandan yüksek tedavi harcamaları ve işgücü kaybı nedeni ile hem hastaya hem de topluma büyük yük getirmektedir. Hastalığın gerek bireysel, gerekse toplumsal boyutunun olması, mümkün olduğunca erken tespit edilerek gerekli yaşam tarzı değişikliklerinin yapılmasını önemli kılmaktadır. Bu amaçla tanı koymada çabuk, zahmetsiz, ucuz ve güvenilir yöntemlerin geliştirilmesi zorunlu hale gelmektedir. Bilim adamları, diyabet tanısına katkıda bulunacak yeni parametrelerin arayışı içerisindeyler. Oral glukoz tolerans testi (OGTT) yıllardır diyabet tanısı için kullanılmaktadır ve OGTT'deki glukoz değerleri ADA ve WHO gibi kuruluşlar tarafından sıklıkla güncellenmektedir. OGTT'ye alternatif olarak sunulan bu yeni tanı parametreleri muhtemelen yakın bir gelecekte klinisyenler tarafından rutin olarak kullanılmaya başlanacaktır.

Anahtar kelimeler: Diyabet, tanı, takip, biyokimyasal belirteçler

Correspondence (Yazışma Adresi):

Emel Şahin

Mevlana Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi

Biyokimya Anabilim Dalı

Tel:0-539-2605445

e-mail:esaritekin@mevlana.edu.tr

GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM), insülin salınımı, insülin etkisi veya bu faktörlerin her ikisinde de bozukluk olması sonucunda ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır. Tüm dünyada, gün geçtikçe insidansı artan diyabet, bir yandan oldukça ciddi oranlarda morbidite ve mortaliteye yol açarken, diğer yandan yüksek tedavi harcamaları ve işgücü kaybı nedeni ile hem hastaya hem de topluma büyük yük getirmektedir. Hastalığın gerek bireysel, gerekse toplumsal boyutunun olması, mümkün olduğunca erken tespit edilerek gerekli yaşam tarzı değişikliklerinin yapılmasını önemli kılmaktadır. Bu amaçla tanı koymada çabuk, zahmetsiz, ucuz ve güvenilir yöntemlerin geliştirilmesi zorunlu hale gelmektedir.

SINIFLAMA VE TANI

Diyabet Sınıflaması

Diyabet etiyolojik olarak 2007 yılında ADA (American Diabetes Association) tarafından tip1, tip 2, gestasyonel diyabet ve sekonder diyabet olarak dört sınıfa ayrılmıştır. Tip 1 diyabet kendi içinde immün aracılı ve idiyopatik olarak iki gruba ayrılmıştır (1) .

1. Tip 1 DM: Tip 1 DM, insüline bağımlı DM veya Juvenil DM olarak bilinir (2). Pankreasın beta hücrelerinin otoimmün yıkımı sonucu ortaya çıkar (2,3,4). Yıkım genetik, çevresel ve otoimmün nedenlere bağlı olabilir (1,5,6,7). Tip 1 diyabetli hastaların %90'dan fazlasında HLA pozitifliği vardır (DR3-DR4-DQ) (5).

2. Tip 2 DM: Tip 2 DM; en sık görülen tiptir. İnsüline bağımlı olmayan DM de denir. Etiyolojide insüline periferik direnç, yetersiz insülin sekresyonu veya her ikisi birlikte olabilir (8).

3. Gestasyonel DM: Gestasyonel Diabetes Mellitus (GDM); gebelikte başlayan veya ilk kez gebelik sırasında tanı alan diyabet tipidir. Birinci derece akrabalarda diyabet öyküsü, obezite, ileri anne yaşı, glukozüri ve önceki gebelikte makrozomi, polihidroamnioz veya ölü doğum bulunması durumlarında ortaya çıkma riski yüksektir (9).

Tüm yetişkinler demografik ve klinik özelliklerine uygun olarak tip 2 diyabet risk faktörleri açısından değerlendirilmelidir. Obez veya kilolu (Beden kitle indeksi >25 kg/m²) ve özellikle santral obezitesi (bel çevresi kadında >88 cm, erkekte >102 cm) olan kişilerde, 40

yaşından itibaren 3 yılda bir, tercihen açlık plazma glukozu (APG) ile diyabet taraması yapılmalıdır. Tip 2 diyabet riski yüksek çocuk ve adolesanlarda, 10 yaşından itibaren 2 yılda bir diyabet taraması yapılmalıdır (10). Erişkinlerde tip 2 diyabet taraması ve tanılama şeması Şekil-1.'de görülmektedir.

Diyabet Tanısı

Diyabet tanısı için kabul görmüş tanı kriterleri venöz plazmada glukoz oksidaz yöntemi ile yapılan ölçümleri baz almaktadır. Klinikte veya hastaların evde glisemi takibinde kullandıkları tam kan, kapiller kan ve serum glisemi değerleri venöz plazmadan yapılan ölçümlere göre farklılık göstermektedir.

Plazma glukoz (mg/dl) = 0.558 + [20.254 X tam kan glukoz (mg/dl) /18].

Plazma glukoz (mg/dl) = 0.102 + [19.295 X kapiller kan glukoz (mg/dl) /18].

Plazma glukoz (mg/dl) = -0.137 + [18.951 X serum glukoz (mg/dl) /18].

Bu formüllere dayanarak, son yıllarda kapiller tam kanda glukoz düzeyini ölçen cihazların plazma glukoz düzeylerine göre kalibre edilerek kullanılması benimsenmektedir. Buna göre venöz plazmada 126 mg/dl olarak ölçülen glukoz düzeyi tam kanda ~%11 (112 mg/dl), kapiller kanda ~%7 (118 mg/dl), serumda ise ~%5 (120 mg/dl) daha düşük ölçülür. ADA 2010 revizyonlarını içeren en güncel Tip2 DM tanı kriterleri tablodaki gibidir (Tablo 1) (10).

Bu kriterlere göre tanı koyulurken dikkat edilmesi gereken hususlar vardır. Örneğin; kan glukozu ölçümünde referans yöntem olarak venöz plazma ve glukoz oksidaz yöntemi kullanılmalıdır. Açlık plazma glukozu için en az 8 saatlik açlık gereklidir. Rastlantısal plazma glukozu, gıda alımına bağlı olmaksızın günün herhangi bir saatinde alınabilir. Oral glukoz tolerans testi (OGTT) 75 g oral glukoz alımı ile yapılmalıdır. HbA1c, ancak uluslararası standardize edilmiş yöntemlerle ölçüm yapıldığında tanı testi olarak

Tablo 1. Diyabet tanı kriterleri. Amerikan Diyabet Derneği (ADA) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2003 ve 2010 revizyonlarını içermektedir.

Açlık Plazma Glukozu (APG)	≥ 126 mg/dl
Rastlantısal Plazma Glukozu + Diyabet Semptomları	≥ 200 mg/dl
OGTT'de 2. Saat Plazma Glukozu	≥ 200 mg/dl
HbA1c	≥ %6.5

Tablo 2. Gestasyonel Diabetes Mellitus tanı kriterleri. ADA: Amerikan Diyabet Derneği; WHO: Dünya Sağlık Örgütü; IADPSG: Diyabet ve Gebelik Çalışma Grupları Uluslararası Birliği.

	ADA 1997 ve ADA 2004-2010 100GR OGTT		ADA 1997 ve ADA 2004 75GR OGTT		WHO 1999 75 GR OGTT		IADPSG 2010, ADA 2011, ADA 2012-2013 75 GR OGTT	
	mg/dl	mmol/l	mg/dl	mmol/l	mg/dl	mmol/l	mg/dl	mmol/l
açlık:	95	5.3	95	5.3	126	7	92	5.1
1.saat:	180	10	180	10			180	10
2.saat:	155	8.6	155	8.6	140	7.8	153	8.5
3.saat:	140	7.8						
	Tanı için 2 ve üzerinde değer		Tanı için 2 ve üzerinde değer		Tanı için en az 1 değer eşik değere eşit ya da üzerinde olması		Tanı için en az 1 değer eşik değere eşit ya da üzerinde olması	

kullanılabilir. Ülkemizde henüz HbA1c, ölçüm testleri standardize edilemediği için tek başına tanı testi olarak kullanımı önerilmez. HbA1c testi anemi, hemoglobinopati ve gebelik varlığında tanı testi olarak kullanılamaz (1).

Gestasyonel Diyabet Tanısı

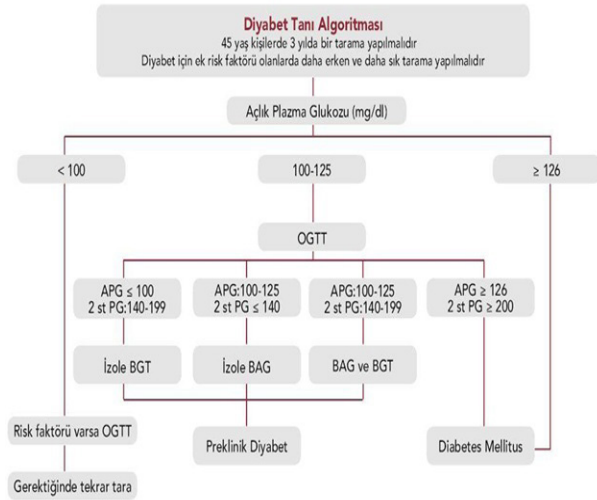
Yüksek riskli gebelerin mümkün olan en erken zamanda değerlendirilmesi gerektiği, 24. gebelik haftasından önce bilinen karbonhidrat intoleransı olmayan gebelerin de 24-28. haftada taranması gerektiği bildirilmiştir. APG 126 mg/dl üzerinde ve herhangi bir zamanda ölçülen APG 200 mg/dl ve üzerinde olduğunda OGTT'ye gerek duyulmaksızın en az bir doğrulama testi ile DM tanısı konulmalıdır. Aşık karbonhidrat intoleransı saptanmayan gebeler, 24-28. haftada bir basamaklı ya da iki basamaklı yaklaşımla değerlendirilmelidir. Bir basamaklı yaklaşımda tüm gebelere diagnostik OGTT (75 g ya da 100 g ile) yapılmalıdır. 3 gün boyunca kısıtlama olmadan diyet uygulamasından ve 8-14 saatlik gece açlığından sonra plazma glukozu ölçülür. 75 g glukoz (çocuklarda 1,75 g/kg) 250-300 ml su içinde çözülerek 5 dakika içinde yüklenir. Yüklemeden 2 saat sonra alınan kan örneğinde glukoz

ölçümü yapılır (10). İki basamaklı yaklaşımda ise öncelikle 50 g ile tarama testi, testte karbonhidrat intoleransı saptanan gebelere de diagnostik OGTT yapılması önerilmektedir (11). 50 g tarama testi, günün herhangi bir saatinde açlık gerektirmeden yapılır. 1. saat plazma glukozu için eşik değer ≥ 140 mg/dl alındığında; gestasyonel diyabetli bireylerin %80 ini ve gebe popülasyonunun %14-18'ini, eşik değer ≥ 130 mg/dl alındığında gestasyonel diyabetli bireylerin %90'dan fazlasını ve gebe popülasyonunun %20-25'ini oluşturur. Bu eşik değerler üzerindeki gebelere tanısal OGTT yapılması önerilir. Bu test için 8-14 saatlik açlık ve en az 3 gün 150 g ve üzerinde karbonhidrat alımı gereklidir. Test sırasında bireyin istirahat halinde olması ve sigara içmemesi önerilmektedir (9). Test için kabul edilen eşik değerler tabloda gösterilmiştir (Tablo 2).

TANI VE TAKIPTE KULLANILAN DİĞER BİYOKİMYASAL BELİRTEÇLER

Keton Cisimleri

Yağ metabolizmasının yan ürünleridir. Keton cisimlerinin varlığı insülin eksikliği nedeniyle gıdaların iyi metabo-



Şekil 1. Erişkinlerde tip 2 diyabet taraması ve tanılama şeması. *Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2013 (10).*

lize edilemediğini veya yetersiz karbonhidrat alımını düşündürür. Asetoasetat, aseton ve β-hidroksibütirik asit, diyabetli hastalarda diyabetik ketoasidozun tanısı ve gidişinin izlenmesi için tayin edilir. Diyabetlilerde akut hastalık, stres, inatçı hiperglisemi [plazma glukozu>16,7 mmol/L (300 mg/dL)], gebelik, diyabetik ketoasidoz semptomları varlığında idrarda keton cisimleri tayini yapılmalıdır (8,12).

Glikozile Hemoglobin (HbA1c)

Hastaların glisemik kontrol derecelerini belirlemek adına tüm hastalarda ölçülmesi gereken bir parametredir (8). HbA1c, hemoglobinin β-zincirinin N-terminalinde bulunan valin aminoasidinin (BV1) α-amino grubunun glukoz ile tepkimesi (glikasyon) sonucu oluşur ve normal kişilerin hemoglobininin %4-6 kadarı HbA1c şeklindedir. Ölçümden önceki ortalama 3 aylık glukoz kontrolünü yansıtır. Bu testi yaptırmak için hastanın aç olması gerekmez. Son yıllarda HbA1c'nin tüm dünyada standardizasyonu yönündeki çabalar ve prognostik önemine dair kanıtların artması sonucunda HbA1c'nin de diyabet tanı testi olarak kullanılabilceği gündeme gelmiştir. ABD'de tüm laboratuvarların kullandıkları HbA1c ölçüm yönteminin Ulusal Glikohemoglobin Standardizasyon Programı (NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program)

tarafından sertifikalandırılması ve sonuçların DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) çalışmasında kullanılan ve altın standart olarak kabul edilen HPLC (yüksek performanslı likid kromatografi) yöntemine göre kalibre edilmesi şart koşulmaktadır. DCCT çalışmasında kullanılan HPLC yöntemine göre normal sınırlar %4.0-6.0 (20-42 mmol/mol) arasındadır. DCCT çalışmasına göre standardize edilmiş bu yöntemde HbA1c'nin non-diyabetik üst sınırı %6.0 (42 mmol/mol)'dir (mean±2 %5.9) (10).

Fruktozamin

Plazmadaki glikozillenmiş proteinleri (%80 glikozillenmiş albumin) gösterir. Proteinlerin amino gruplarının glukozun karbonil grubuyla nonenzimatik olarak bağlanmasıyla ketoaminler meydana gelir. Plazma ketoaminlerini isimlendirmek amacıyla genel olarak fruktozamin terimi kullanılır. Ölçümden önceki 1-3 haftalık glukoz kontrolünü yansıtır. Serumdaki gliko proteinler HPLC, afinite kromatografisi ve fotometrik yöntemler kullanılarak ölçülebilir. Diyabetli hastalarda kısa süreli (2-3 hafta) glukoz değişikliklerini göstermek amacıyla serum fruktozamin seviyesi ölçümü yapılabilir. Referans aralığı 1.61-2.68 mmol/l'dir (13). Ayrıca gebelikte kısa süreli glukoz kontrolünü değerlendirmek amacı ile veya bazı hemoglobinopatilerde de kullanılabilir (10).

Mikroalbumin

Mikroalbuminüri (üriner albumin ekskresyonu: UAE): Tip 1 diyabette tanıdan 5 yıl sonra veya pubertede, tip 2 diyabette ilk olarak tanıda ve daha sonra her yıl bakılmalıdır. Sabah ilk idrarda albümin/kreatinin oranı tercih edilmelidir. En sık kullanılan ölçüm yöntemi immünötürbidimetrik yöntemdir. 24 saatlik idrarda 300 mg/gün'ün üstünde UAE mikroalbuminüri olarak yorumlanır. Mikroalbuminürinin prognostik anlamı vardır. Mikroalbuminüri tip 1 diyabetli hastaların %80'inde üriner albümin atılımı her yıl %10-20 artar ve 10-15 yılda klinik proteinüri, %20-40'ında nefropati gelişir (14).

İleri Glikasyon Ürünleri

Hücredeki glukoz kökenli dikarbonil prekürsörlerle hücre içi ve dışı proteinlerin nonenzimatik reaksiyonu (Maillard reaksiyonu) sonucu gelişen olaya 'glikasyon' denir. Protein glikasyonu ve ileri glikasyon ürünleri diyabetik komplikasyonların (retinopati, nefropati, nöropati, kardiyomyopati, RA, osteoporoz) gelişmesinde önemli role sahiptir (15). Enzimatik onarım mekanizmasına rağmen protein glikasyonu kaçınılmaz bir olaydır ve artmış glukoz konsantrasyonunun bir sonucu olarak diyabet gibi durum-

larda glikasyon son ürünleri proteinler üzerinde birikmeye devam eder. Proteinler üzerinde glikasyon son ürünlerinin birikmesiyle diyabetteki vasküler, renal, retinal ve nöral komplikasyonlar arasında ilişki vardır. Glikasyona uğramış proteinler, reseptörler aracılığıyla inflamatuvar yanıt oluşturarak gen aktivasyonuna ve bu aktivasyon sonucu çeşitli inflamatuvar hastalıklara neden olur. Proteinlerin glikasyonu, moleküler yapıyı, enzim aktivitesini, reseptör fonksiyonlarını olumsuz etkiler. Yapılan son çalışmalarda AGE (advanced glycation end-product)'lerin plazma membranında lokalize reseptörlerle etkileşime girdiği ve sinyalizasyonu bozduğu gösterilmiştir. RAGE (receptors for AGE's) olarak adlandırılan bu reseptörlerin diğer hücrel reseptörlerle etkileşime girmesi diyabetik komplikasyonların gelişmesinde önemli role sahiptir (15).

AGE-RAGE etkileşimi veya doğrudan AGE etkileri

3.5.1.a. Lipid peroksidasyonunda artış: Protein glikasyon ürünlerinin oksidatif yıkımı ve AGE reseptörleri aktivasyonunun indüklediği oksidatif stres oksijen radikallerinin yapımında artışa neden olur. Önemli antioksidan enzimlerden olan süperoksit dismutaz enzimi glikasyon sonucu inhibe olur. Oksidan koşullar ayrıca nitrik oksidin seviyesini azaltırken, endotelin-1 sentezini artırır. Bu etkiler hücre ve doku düzeyinde lipid peroksidasyonuna ve artmış vazokonstriksiyona neden olur (16).

3.5.1.b. Hücrel aktivitelerin indüksiyonu: Proteinlerin glikasyonu ve AGE reseptörlerinin gliko proteinler ile aktivasyonu, VCAM-1, IL-1, TNF- α ve IGF-1A gibi sitokinlerin sentez ve salgılanmasını artırır. Mitogenezi, mononükleer hücrelerin kemotaksisini, T-hücrelerinin aktivasyonunu ve IFN gamma yapımını artırır. Hücrelerin bu şekilde istenmeyen uyarılmaları sonucu dokularda yeniden şekillenme ve bazal membranda kalınlaşma meydana gelir (16).

3.5.1.c. Proteinlerde yapısal ve fonksiyonel değişimler: Proteinlerin glikasyonu, proteinlerin net yüklerini ve konformasyonlarını değiştirir, çapraz bağlanmaları sonucu oluşan protein agregatları proteazlara dirençli hale geldiklerinden yenilenmez. Örneğin; lensteki kristalin proteinlerinin ileri glikasyonu gözde opaklaşmaya ve görme problemlerine neden olurken; diyabetik kişilerde kollajenlerin hızlı glikasyonu bu proteinlerin erken yaşlanmasına ve elastik özelliklerinin kaybolmasına yol açar (16).

3.5.1.d. Tromboz ve fibrinoliz üzerine etkileri: Protein glikasyonu doku ile ilgili tromboz faktörlerini artırır, tromboomodülün sentezini azaltır. Trombosit agregasyonunu artırır, serin proteaz inhibitörü plazminojen aktivatör

inhibitör-1 (PAI-1) sentezini artırdığından fibrin stabilizasyonuna neden olur. Trombositlerin yaşam süresi kısalmır, yapışkanlıkları artar. Fibrin ve fibrinojenin plazmine duyarlılıkları azalır, antitrombin III'ün fonksiyonları baskılanır (16).

Proteinlerin Glikasyonunun Sonuçları

Fibrinojenin glikasyonu; fibrinolizi ve trombojenik fibrin ağı oluşumunu bozar, vasküler disfonksiyona neden olur. Albüminin glikasyonu; uzun zincirli yağ asitlerinin taşınmasını bozar, serbest radikallerin oluşumuna neden olur, hücre içi glukoz alımının azalmasına, trombosit aktivasyonu ve agregasyonuna yol açar. Kollajenin glikasyonu; fibrozis ve ateroskleroz gelişimine, cilt yaşlanmasına yol açar. IgG'nin glikasyonu; otoimmün olaylara, inflamasyona ve mmunsupresyona yol açar (15).

Antikorlar

Diyabete özgü otoimmün göstergelerin ölçümü, tip 1A diyabetin erken tip 2 diyabetten ayrımı ve erişkinde gizli otoimmün diyabet (LADA; latent autoimmune diabetes in the adult) vakalarının tespiti gibi durumlarda önemli yararlar sağlamaktadır (3). Ayrıca tip 1A diyabetin önlenmesine ilişkin çalışmalarda riskli kişilerin tespit edilmesi ve izlenmesinde otoimmün göstergelere ihtiyaç vardır (17,18). Klinik kullanımda en yaygın olarak kullanılan otoantikorlar; ICA: adacık hücre sitoplazmik antikor, IAA: insülin antikor, GADA: glutamik asit dekarboksilaz antikor, IA-2: anti-tirozin fosfataz antikor, IA-2 β : anti fognin antikor (19). Son yıllarda, yeni bir gösterge olarak β hücresine özgü bir antikor olan ZnT8A (çinko transporter antikorları) da tanımlanmıştır (18).

3.6.1. Adacık Sitoplazmik Antikor (ICA): Adacık hücre sitoplazmasına karşı antikorlar ilk olarak 1974 yılında Bottazzo ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. GAD65 (Glutamik asit dekarboksilaz 65), GAD67 (Glutamik asit dekarboksilaz 67), IA-2, IA-2 β , karboksipeptidaz-H, osteopontin gibi birçok yapıya karşı gelişen antikorların aynı zamanda ICA olarak da belirdiği gösterilmiştir. ICAlar adacık hücresinde sadece β -hücreleri ile değil α , γ , δ , ve PP (pankreatik polipeptid) hücreleri ile de etkileşime girerler. Dolayısıyla ICAlar, tek bir yapıya karşı oluşan bir antikor değil, antikor karışımıdır. Adacık hücrelerinin yüzey antijenlerine karşı da antikor geliştiği 1978 yılında Lernmark ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir. Adacık sitoplazmik antikorların tayini indirekt immunofloresan (IF) yöntemi ile yapılır. Bu yöntemde, 0 grubu, taze iken dondurulmuş (total iskemi zamanı 0-4°C'de maksimum 6

saat), non-diyabetik insan kadavra pankreası kullanılır, bir dizi işlemde geçirildikten sonra floresan mikroskopta kesitler incelenir. Son yıllarda ticari kitler de kullanıma girmiştir ama standardizasyon sağlanabilmiş değildir. Yeni tanı konulan tip 1 diyabette %80-90 gibi oldukça yüksek orandaki çocuk olguda ICA pozitif bulunur. Bir hastada ICA titresinin yüksek bulunması, halen bir miktar β -hücresinin mevcut olduğunun ve bu hücrelerin destrüksiyonunun devam ettiğinin göstergesidir. Zaman içinde hedef dokunun iyice azalması ile titre düşer ve tip 1 diyabet tanısından 10 yıl sonra vakaların çok azında (<%5) ölçülebilir düzeyde kalır (18).

3.6.2. İnsülin Otoantikorları (IAA): İnsülin β -hücresine spesifik otoantijendir. Ekzojen insüline karşı antikor geliştiği 1950'li yıllardan beri bilinmektedir ancak endojen insüline karşı otoantikor varlığı ilk kez 1983 yılında Palmer ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir. ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) veya tercihen RBA (Radio-ligand binding assay) ya da RIA (Radyo İmmunassay) ile tayin edilebilir. IAA'nın pozitif bulunma sıklığı yaş ile ters orantılıdır (20,21). Yeni tanı konulan tip 1 diyabetli çocukların %50-70'inde IAA pozitif bulunur. Buna karşılık erişkin hastalarda sadece %20-30 olguda insüline karşı otoantikor vardır. Yaşı 15'in altında olan diyabetlilerde IAA pozitif bulunma oranı cinsiyet farkı göstermezken, 15 yaş üstü olanlarda erkek/kadın oranı 2/1'dir (18) .

3.6.3. Glutamik Asit Dekarboksilaz Antikorları (GADA): 1980'li yıllarda tip 1A diyabetli vakalarda tanıdan 10 yıl sonra dahi kalıcı olabilen, 64.000 Dalton (64 kD) ağırlığındaki adacık protein otoantijenine karşı antikor (anti-64 kD) tanımlanmıştır. 1990 yılında bu otoantijenin gama-amino bütirik asid (GABA) sentezinde hız kısıtlayıcı bir enzim olarak bilinen ve esas olarak merkezi sinir sisteminde bulunmakla birlikte pankreas adacık hücreleri, testis, over, adrenal bez ve böbrek gibi başka bazı ekstranöral dokularda da sentezlenen glutamik asid dekarboksilaz (GAD) olduğu anlaşılmıştır. Glutamik asid dekarboksilazın %70 aminoasid homolojisi gösteren iki izoformu vardır: GAD65 ve GAD67. Bunlardan GAD65'e karşı antikor gelişimi diyabetli hastalarda daha sıktır. GADA ölçümü RIA, RBA veya ELISA ile yapılabilir (22). Son yıllarda geliştirilen, GAD65'e karşı antikorların ölçüldüğü ticari ELISA kitleri ile RIA'den daha yüksek duyarlılık ve benzer özgüllükte ölçüm yapılabildiği bildirilmektedir. Adacık sitoplazmik antikorlarına benzer şekilde, yeni tanı tip 1A diyabetlilerin %70-80 gibi önemli bir kısmında GADA pozitif bulunur. Bununla birlikte, normal popülasyonda pozitif bulunma oranı ICA'ya kıyasla biraz daha fazladır

(%2-3). Bu nedenle GADA prediyabetik dönemde ICA kadar sensitif prediktif değer taşır, ancak ICA daha spesifiktir. GADA'nın tip 1A diyabet başlangıcından sonra uzun süre kalıcı olarak seyretmesi, retrospektif tanıda, özellikle tanıdan birkaç yıl sonra LADA olgularında önemli avantaj sağlar. Tekrarlanabilir olması ve daha az dalgalanma göstermesi testin diğer üstünlükleridir (18).

3.6.4. Çinko Transporter Antikorları (ZnT8A): Çinko transporter (ZnT8, Slc30A8) adacık hücrelerinde bir transmembran otoantijendir. Bu antijene karşı gelişen antikor (ZnT8A) 2007 yılından beri otoimmün diyabet için bir gösterge olarak kabul edilmektedir, ancak kullanımı henüz yaygın değildir. ZnT8 antikoru yeni tanı tip 1 diyabette %60-80, kontrol grubunda <%2, tip 2 diyabette <%3, tip 1 diyabetle birlikte göstermesi olası otoimmün hastalıklarda %30 oranında pozitif bulunmuştur. Diğer yöntemlerle "otoantikor negatif" olarak sınıflandırılan hastaların %26'sında ZnT8A pozitif bulunmuştur. GAD ve IA2'nin aksine β -hücresine spesifik olması önemli avantajıdır. Bu nedenle, ZnT8A ölçümlerinin adacık yıkım miktarının ve önleyici tedavilerin başarısının takibinde gösterge olarak kullanılabilirliği belirtilmektedir (23).

Adipositokinler ve İnflamatuar Mediyatörler

Yağ hücresi ve dokusu; pasif enerji deposu ve aktif metabolik bir endokrin organ olarak görev yapar. Yağ hücresi membranında ve sitoplazmasında çeşitli hormon ve sitokinlere ait reseptörler bulunur. Özellikle beyaz yağ dokusu, geniş ölçüde protein sinyallerini ve adipokin adı verilen apelin, resistin, adiponektin, ghrelin, leptin, visfatin, omentin gibi faktörleri salgılayan en önemli endokrin ve sekretuar organlardan biridir. Bütün bu adipokinler inflamasyon, inflamatuvar yanıt ve insülin direnci, metabolik sendrom gibi bazı metabolik ve otoimmün hastalıklarla bağlantılıdır (24).

3.7.1. Rezistin: 12,5 kDa ağırlığında 108 aminoasitli dimerik yapıda bir adipositokindir (24,25). Rezistin periferik sinyal molekülü olarak glukoz toleransını ve insülinin hücrelere etkisini bozar, hücrelerin glukoz alımını ve insüline duyarlılığını azaltır, insülin direnci gelişimine neden olur. Yapılan pek çok çalışmada rezistinin insan endotel hücrelerinde VCAM-1 ve endotelin ekspresyonunu arttırdığı, tip 2 diyabetik hastalarda olduğu gibi diyabeti olmayanlarda da rezistinin C-reaktif protein ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (24,26).

3.7.2. Adiponektin: Adiponektin esas olarak beyaz adipositlerden salınan 30 kDa olan bir proteindir. Glukoz

metabolizması üzerine adiponektinin etkileri adiponektin reseptör 1 (AdipoR1) ve adiponektin reseptör 2 (AdipoR2) olarak adlandırılan iki farklı reseptör üzerinden gerçekleşmektedir. Adiponektin iskelet kasında insülin reseptörlerinin tirozin fosforilasyonunu artırır. İnsülin direnci gelişmiş farelere adiponektin verilmesiyle hiperglisemi ve hiperinsülineminin düzeldiği gözlenmiştir. Vaka-kontrollü çalışmalarda düşük adiponektin seviyelerinin tip2 DM görülme sıklığının yüksekliği ile ilişkili olduğu ve ileride gelişen tip 2 diyabet için risk faktörü olduğu gösterilmiştir (24,27).

3.7.3. Leptin: 1994 yılında Zhang ve arkadaşları tarafından keşfedilen leptin, sitokinlere benzeyen ve 167 aminoasit içeren protein yapısında bir hormondur. Açlık serum insülin düzeyi ile serum leptini arasında korelasyon mevcuttur ve hiperleptinemi ile insülin direnci arasında pozitif ilişki gösterilmiştir (24). Leptin hipotalamusa etki ederek nöropeptit Y salınımını inhibe etmektedir. Böylece iştah ve enerji harcanmasını düzenleyerek vücut ağırlığını dengeler (28,29). Obez insanlarda leptin rezistansı nedeniyle leptinin b-hücrelerinde glukoz aracılı insülin sekresyonunu önleme özelliği ortadan kalkmakta ve ortaya çıkan kronik hiperinsülineminin insülin bağımsız diyabetin patogenezinde rol oynadığı bildirilmektedir (30).

3.7.4. TNF-alfa; İlk defa yağ dokusu makrofajlarından salgılandığı saptanan, immün fonksiyonları modüle eden TNF-alfa yağ hücresinden de salgılanan bir sitokindir. Yağ hücre sayısı ve volumünü düzenler, lipolizi stimüle eder, leptin üretimini artırır, tümör hücresinde TNF-alfa apoptotik etkili olup ve insülin reseptör sayısını azaltarak insülin direnci oluşumuna sebep olur, insülin reseptörünün tirozin kinaz aktivitesini bozar, böylece hücrelerin glukoz alımını azaltır (24).

3.7.5. IL-6; İnterlökin-6 (IL-6) yaklaşık 26 kD luk bir sitokin olup, mononükleer fagositler, damar endotel hücreleri, fibroblastlar ve epitel hücreleri ile bazı aktive T hücreleri tarafından da sentez edilir. IL-6'nın en iyi tanımlanan etkileri hepatositler ve B lenfositleri üzerine olup, akut faz yanıtına katkıda bulunan birçok plazma proteininin hepatositler tarafından sentezine neden olur. IL-6'nın insülinin hepatik glikojen metabolizması üstündeki etkilerine ters etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (24).

SONUÇ

Diyabet ülkemizde ve dünyada sık görülen ve giderek sıklığı artan bir hastalıktır. Tanısal ve prognostik yöntem-

ler hastaların yaşam süresini ve hayat kalitesini artırması açısından önemlidir. Kullanıma girmiş olan ve halen araştırılmakta olan biyokimyasal belirteçlerden sensitivite ve spesifitesine göre hangilerinin rutin kullanıma girilmesi gerektiği tartışılmaktadır.

KAYNAKLAR

1. *Diabetes Mellitus Tanı, Sınıflama Ve İzlem İlkeleri. Ulusal Diyabet Kongresi Konsensus Grubu Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi Kursları, 2012.*
2. *Canivell S, Gomis R. Diagnosis and classification of autoimmune diabetes mellitus. Autoimmunity Reviews 2014;13:403-7.*
3. *Paschke A, Grzelka A, Zawada A, Zozulińska-Ziótkiewicz D. Clinical characteristics and autoantibody pattern in newly diagnosed adult-onset autoimmune diabetes. Pol Arch Med Wewn 2013; 123 (7-8): 401-8.*
4. *Devendra D, Liu E, Eisenbarth G S. Type 1 diabetes: recent developments. BMJ 2004; 328: 750-54.*
5. *Daneman D. Type 1 diabetes. Lancet 2006; 367: 847-58.*
6. *d'Annunzio G, Marchia M, Aloï C, Salina A, Lugani F, Lorini R. Hyperglycaemia and b-cell antibodies: Is it always pre-type 1 diabetes? Diabetes Research and Clinical Practice 2013; e20-2.*
7. *Redondo M J, Fain P R, Eisenbarth G S. Genetics of type 1A diabetes. Recent Prog Horm Res 2001; 56: 69-89.*
8. *Sacks D B, Arnold M, Bakris G L, Bruns D E, Horvath A R, Kirkman M S, Lernmark A, Metzger B E, Nathan D M. Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2011;34:e61-99.*
9. *Çakır E. Gestasyonel Diabetes Mellitus Tanısı. Selçuk Tıp Dergisi 2014; 30(1): 39-41.*
10. *Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, 2013.*
11. *Gülbahar Ö, Çaycı A B, Budakoğlu Ü, Ersin U, Bukan N, Paşaoğlu H, Nas T. Gestasyonel Diabetes Mellitus Tanısı İçin OGTT Değerlendirmesinde ADA Kriterlerinin Yeri. Türk Klinik Biyokimya Dergisi 2010; 8(2): 63-7.*
12. *Adam B, Yiğitoğlu M R. Tıbbi Biyokimya. Atlas Yayınları. 2012; 133,244*
13. *Burtis C A, Ashwood E R. Tietz Textbook of Clinical Chemistry Third Edition. W.B Saunders Company. 796-8,1814.*

14. Çaycı T, Akgül E Ö, Kurt Y G, Ağıllı M, İspir E, Türker T, Taşlıpınar A, Yaman H, Çakır E, Bilgi C, Erbil M K. Diabetes Mellituslu Hastalarda 24 Saatlik, Anlık ve Gecelik İdrarlarda Mikroalbumin Ölçümü. *Fırat Tıp Dergisi* 2010;15(2): 92-5.
15. Singh V P, Bali A, Singh N, Singh Jaggi A. Advanced Glycation End Products and Diabetic Complications. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2014; Vol 18: 1-14, February.
16. Busch M, Franke S, Ruster C, Wolf G. Advanced glycation end-products and the kidney. *Eur J Clin Invest* 2010; 40: 742-55.
17. Hinmana R M, Smith M J, Cambier J C. B cells and type 1 diabetes in mice and men. *Immunol Lett* 2014; 01.010.
18. Salman S, Satman I. Diyabete Özgü Antikorlar ve Klinik Pratikte Kullanımları. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism.* 2011; 15: 8-12.
19. Tülek N. Diyabet ve İmmün Sistem. *Türk Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Derneği. II. Ulusal Diyabetik Ayak Enfeksiyonları Sempozyumu*, 2012.
20. Yu L, Dong F, Miao D, Fouts A R, Wenzlau J M, Steck A K. Proinsulin/Insulin Autoantibodies Measured With Electrochemiluminescent Assay Are the Earliest Indicator of Prediabetic Islet Autoimmunity. *Diabetes Care* 2013; 36: 8 2266-70.
21. Vardi P, Ziegler A G, Mathews J H, et al. Concentration of insulin autoantibodies at onset of type I diabetes. *Inverse log-linear correlation with age.* *Diabetes Care* 1988;11: 736-9.
22. Chao C, Huang G, Li X, Yang L, Lin J, Jin P, Luo S, Zhang Y, Pan L, Zhou Z. Change of glutamic acid decarboxylase antibody and protein tyrosine phosphatase antibody in Chinese patients with acute-onset type 1 diabetes mellitus. *Chinese Medical Journal* 2013; 126 (21).
23. Wenzlau J M, Juhl K, Yu L, Moua O, Sarkar S A, Gottlieb P, Rewers M, Eisenbarth G S, Jensen J, Davidson H W, and Hutton J C. The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; Oct 23;104(43):17040-5.
24. Altaş S, Gürsu M F, Bulmuş F G. Adipoz Dokudan Salınan Yeni Adipokinler. *Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi* 2011; 6: 17.
25. Steppan C M, Lazar M A. Resistin and obesity-associated insulin resistance. *Trends Endocrinol Metab.* 2002; Jan-Feb;13(1):18-23.
26. Verma S, Li S H, Wang C H, Fedak P W, Li R K, Weisel R D, Mickle D A. Resistin promotes endothelial cell activation: further evidence of adipokine-endothelial interaction. *Circulation* 2003; 12;108(6):736-40.
27. Mather K J, Funahashi T, Matsuzawa Y, Edelstein S, Bray G A, Kahn S E, Crandall J, Marcovina S, Goldstein B, Goldberg R. Adiponectin, Change in Adiponectin, and Progression to Diabetes in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes* 2008; 57(4): 980-6.
28. Yiğitbaşı T, Baskın Y, Afacan G, Harmanda A. Obez Hastalarda Büyüme Hormonu, Leptin, Amilin, Glukagon Benzeri Peptid-1 Seviyeleri ile İnsülin Direnci Arasındaki İlişki. *Türk Biyokimya Dergisi* 2010; 35 (3) ; 177-82.
29. Lee C Y, Lee C H, Tsai S, Huang C T, Wu M T, Tai S Y, Lin F F, Chao N C, Chang C J. Association between serum leptin and adiponectin levels with risk of insulin resistance and impaired glucose tolerance in non-diabetic women. *Med Sci* 2009; 25(3): 116-25.
30. Koca C, Nilgün Altan N, Sepici Dincel A, Kosova F, Şahin D, Arslan M. Tip 1 ve Tip 2 Diyabetik Hasta Serumlarında Oksidatif Stres ve Leptin Düzeylerinin İncelenmesi. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2008; 6(3): 99-107.