

Diyabete Özgü Antikorlar ve Klinik Pratikte Kullanımları

Diabetes-Specific Antibodies and Their use in Clinical Practice

Serpil Salman, İlhan Satman*

Acıbadem Üniversitesi, Acıbadem Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
*İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Özet

Tip 1A diyabet insülin sekrete eden pankreas adacık β hücrelerinin immun aracılı yıkımı sonucunda gelişir. Hastaların çoğunda klinik seyir tipiktir ve tanıda kuşku yoktur. Ancak diyabete özgü otoimmun göstergelerin ölçümü, tip 1A diyabetin erken tip 2 diyabetten ayırımı ve erişkinde gizli otoimmun diyabet (LADA) vakalarının tespiti gibi durumlarda önemli yararlar sağlamaktadır. Ayrıca tip 1A diyabetin önlenmesine ilişkin çalışmalarda riskli kişilerin tespit edilmesi ve izlenmesinde otoimmun göstergelere ihtiyaç vardır. Klinik kullanımda en yaygın olarak kullanılan otoantikorlar ICA, IAA, GADA ve IA-2 / IA-2 β 'dir. Son yıllarda, yeni bir gösterge olarak β hücresine özgü bir antikor olan ZnT8A da tanımlanmıştır. Bu makalede diyabete özgü otoantikorların ölçüm ve klinikte kullanımları irdelenmiştir. *Türk Jem 2011; 15: 8-12*

Anahtar kelimeler: Tip 1 diyabet, otoantikor, ICA, IAA, GADA, IA-2, IA-2 β , ZnT8A

Abstract

Type 1A diabetes results from the destruction of the insulin-secreting islet β -cells by an immune-mediated process. In the majority of patients, the clinical course is typical and there is no doubt about the diagnosis. However, the measurement of autoimmune diabetes markers is very useful in some situations such as differential diagnosis of type 1A diabetes and early-onset type 2 diabetes, as well as in the detection of latent autoimmune diabetes in adults (LADA) cases. Moreover, in the type 1A diabetes prevention studies, autoimmune markers are needed for detection of individuals under risk and for their follow-up. The autoantibodies widely used in clinical course are: ICAs, IAA, GADA and IA-2 / IA-2 β . Recently, a novel marker, ZnT8A, is described as a β -cell-specific antibody. In the present paper, the assay and clinical use of diabetes-specific autoantibodies are reviewed. *Türk Jem 2011; 15: 8-12*

Key words: Type 1 diabetes, autoantibody, ICAs, IAA, GADA, IA2, IA-2 β , ZnT8A

Giriş

Tip 1 diyabet, pankreas beta adacık hücrelerinin yıkımı ile seyreden, kronik, ilerleyici bir hastalıktır. Genellikle çocuklukta ya da adolesan çağda tanısı konulur, çoğunlukla otoimmun β -hücre destrüksiyonuna bağlı olduğu bilinmektedir, bazı vakalarda ise etiyoloji saptanamamaktadır. Amerikan Diyabet Birliği (ADA) etiyolojik kriterlere göre hastalığın tip 1A (immun aracılı) ve tip 1B (diyabetin ağır insülin yetersizliği ile seyreden diğer formları) olmak üzere iki ana başlıkta incelenmesini önermektedir (1).

Tip 1 diyabetin otoimmun kökenli olabileceğini düşündüren ilk önemli bulgu, 1965 yılında yeni tanı konulmuş diyabetli bir çocuğun otopsisinde pankreasta insulinitis saptanmasıdır. Daha sonraki yıllarda hastalığın spesifik HLA allelleri ile ilişkili olduğunun gösterilmesi, HLA-uyumlu kişilerden pankreas naklini takiben birçok vakada nüks etmesi ve yeni başlangıçlı tip 1 diyabette siklosporin-A, azatiyoprin gibi immunosupresif ilaçlarla β -hücre fonksiyonunun korunduğunun anlaşılması, tip 1 diyabetin otoimmun bir hastalık olduğunun güçlü kanıtları olarak kabul edilmiştir (2). 1990'lı yıllardan itibaren yapılan araştırmalarda hücrenel ve humoral im-

mun yanıtların hedefi olan self antijenler ve onlara karşı gelişen otoantikorlar bulunmuş, immün aktivasyon ve β -hücre destrüksiyonunda rol alan hücre yüzey molekülleri tanımlanmış, ayrıca HLA moleküllerinin peptidleri bağlama şeklinin tip 1 diyabete yatkınlık ya da direnç durumunu belirlediği anlaşılmıştır (3).

Son otuz yılda yapılan çalışmalarla, yeni başlayan Tip 1 diyabetli olgularda birçok yapıya karşı otoantikor oluştuğu saptanmış (4) (Tablo 1) ve bunlardan bazılarında karşı gelişen antikorların ölçümü rutin hale gelmiştir. Klinik kullanımdaki otoantikorlar "adacık hücresi sitoplazmik otoantikorları (ICA)", "glutamik asid dekarboksilaza karşı antikorlar (Anti-GAD ya da GADA)", "insülin otoantikorları (IAA)", "anti-tirozin fosfataz antikorları (ICA-512 veya IA-2A; insülinoma ile ilişkili otoantikorlar)", "anti-fogrin antikorları (IA-2 β ; insülinoma ile ilişkili 2 β otoantikor)" ve son zamanlarda tanımlanan "çinko transporter antikorları (ZnT8A)" olmak üzere altı adettir. ICA, GADA, IAA ve son zamanlarda IA-2A otoantikorları ülkemizde özellikle üniversiteler olmak üzere, bazı gelişmiş laboratuvarlarda rutin olarak ölçülmektedir.

Klinikte Kullanılan Adacık Hücre Otoantikorları

Adacık Sitoplazmik Antikoru (ICA)

Adacık hücre sitoplazmasına karşı antikorlar ilk olarak 1974 yılında Bottazzo ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (5). GAD65, GAD67, IA-2, IA-2 β , karboksipeptidaz-H, osteopontin gibi birçok yapıya karşı gelişen antikorların aynı zamanda ICA olarak da bildirildiği gösterilmiştir. ICA'lar adacık hücresinde sadece β -hücreleri ile değil α , γ , δ , ve PP (pankreatik polipeptid) hücreleri ile de etkileşime girerler. Dolayısı ile ICA (daha doğru bir ifade ile ICAlar), tek bir yapıya karşı oluşan bir antikor değil, antikor karışımıdır. Adacık hücrelerinin yüzey antijenlerine karşı da antikor (ICSAs) geliştiği 1978 yılında Lernmark ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (6). 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. Donör 40 yaşından daha genç ve mümkünse otoantikor negatif olduğu teyit edilmek üzere önceden kanı alınmış bir kişi olmalıdır. Tetkikin yapılacağı zamana kadar -80°C'de saklanan pankreastan 2-4 μ m kalınlığında kesitler alınır ve bunlara hasta serumu damlatılır. Bazı teknik işlemlerden geçirildikten sonra anti-human immunglobulini (anti-human IgG) ile muamele edilir. Yine bir dizi işlemden geçirildikten sonra hematoksilen eozin boyaması ile adacık dokusu görünür hale getirilir. Ardından, plomb tertibatlı epi-illüminasyonlu IF mikroskobu kullanılarak kesitler incelenir. Değerler Juvenile Diabetes Foundation ünitesi (JDFu) üzerinden verilir, ≥ 20 JDFu ise pozitif, < 10 JDFu ise negatif, aradaki değerler şüpheli olarak yorumlanır (7). ICA testi ile ilişkili olarak, testin taze insan pankreası ile yapılması, yorucu ve uzun işlem gerektirmesi, teknik donanım ihtiyacı duyulması, sonuçların bireysel flüktüasyon göstermesi, değerlendirmenin subjektif olması nedeni ile deneyimli eleman gerektirmesi ve laboratuvara göre değişen sonuçlar alınabilmesi gibi problemler vardır. Son yıllarda kullanıma giren ticari kitlelerle yapılan ölçümlerde de standardizasyon sorunları çözülebilmemiş değildir. Bütün zorluklara rağmen ICA testi klinik kullanımdaki önemini korumaktadır.

Yeni tanı konulan tip 1 diyabette %80-90 gibi oldukça yüksek orandaki çocuk olguda ICA pozitif bulunur (8) (Tablo 2). Bir hastada ICA titresinin yüksek bulunması, halen bir miktar β -hücresinin mevcut olduğunun ve bu hücrelerin destrüksiyonunun devam ettiği göstergesidir. Zaman içinde hedef dokunun iyice azalması ile titre düşer ve tip 1 diyabet tanısından 10 yıl sonra vakaların çok azında ($< 5\%$) ölçülebilir değerde kalır.

Adacık sitoplazmik antikoru tip 1 diyabet gelişiminde önemli bir prediktif göstergedir. Test pozitif çocuklarda, 1. faz insülin yanıtı 1. persantilin altında bulunmuşsa, 5 yıl içinde tip 1 diyabet gelişme olasılığı %50'yi aşmaktadır (9). Bu nedenle, tip 1A diyabetlilerin yakınları başta olmak üzere, riskli kişilerin taranmasında ICA kullanılabilir. Tablo 3'te İstanbul Tıp Fakültesi Diyabet polikliniğinde izlenen 322 tip 1A diyabetli hastanın 626 yakınında yapılmış ICA taramasının sonuçları verilmiştir (10).

Tablo 1: Tip 1A diyabette olası otoantijenler. (4 no'lu yayından güncellenerek alınmıştır)

Anti karboksipeptidaz H
51-kDa aromatik L-aminoasid dekarboksilaz
Kromotripsinojenle ilişkili 30-kD pankreas antijen
DNA topoizomerez II
Glima 38
Glutamik asid dekarboksilaz
Glikolipid
GLUT 2
Isı şoku proteinleri
IA-2 β
ICA512/IA-2
ICA69
Insülin
Insülin reseptörü
Adacık hücre sitoplazması
Adacı hücresine spesifik 38 kD protein
Adacık hücre yüzeyi
Proinsülin
Rubella ile ilişkili protein
37000/40000 M (r) adacık triptik fragmanları
ZnT8 (Çinko transporter)

Tablo 2: Tip 1 diyabet tanısı konulan hastalarda tanı konulduğu sırada diyabete yönelik otoantikorların pozitif bulunma oranları (8)

Otoantikor	Prevalans (%)	
	Çocuk	Erişkin
GADA	70-80	70-80
IA-2 antikorları	60-70	30-50
IAA	50-70	20-30
ICA	80-90	70-80
GADA veya IA-2 veya IAA	95-100	70-80

Tablo 3: İstanbul Tıp Fakültesi diyabet polikliniğinde izlenen tip 1 diyabetlilerin yakınlarında ICA tetkik sonuçları

	Sayı	Yaş (yıl*)	ICA (+)
Anne	148	34.5 \pm 4.7	6 (%4.1)
Baba	89	36.0 \pm 5.1	3 (%3.4)
Kız kardeş	182	15.5 \pm 7.2	7 (%3.8)
Erkek kardeş	188	12.3 \pm 6.0	10 (%5.3)
Kız çocuk	9	14.6 \pm 6.0	0
Erkek çocuk	10	8.1 \pm 4.5	0

*Ortalama \pm Standart sapma

İnsülin Otoantikörleri (IAA)

İnsülin β -hücresine spesifik otoantijenidir. Ekzojen insüline karşı antikor geliştiği 1950'li yıllardan beri bilinmektedir ancak endojen insüline karşı otoantikör varlığı ilk kez 1983 yılında Palmer ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (11). "Enzyme-linked immunosorbent assay" (ELISA) veya tercihen "Radio-ligand binding assay" (RBA) ya da "Radioimmuno-assay" (RIA) ile tayin edilebilir. Yeni tanı konulan tip 1 diyabetli çocukların %50-70'inde insülin otoantikörü (IAA) pozitif bulunur. Buna karşılık erişkin hastalarda sadece %20-30 olguda insüline karşı otoantikör vardır (8) (Tablo 2). Yaşı 15'in altında olan diyabetlilerde IAA pozitif bulunma oranı cinsiyet farkı göstermez iken, 15 yaş üstü olanlarda erkek/kadın oranı 2/1'dir (12).

İnsülin otoantikörlerinin prediktif değeri ICA'ya kıyasla daha zayıftır. Bu nedenle β -hücre otoimmunitisini belirlemede tek başına kullanılmasından ziyade, diğer otoimmun belirteçlerle birlikte destekleyici olarak IAA'dan yararlanılması önerilmektedir.

Son yıllarda yeni geliştirilen yöntemlerle bu sorunun aşılacağı bildirilmekle birlikte, rutin ölçümlerde IAA ile ekzojen insüline karşı gelişen antikor olan AIA (anti-insülin antikor) ayırımı yapılamamaktadır. Ekzojen insülin alınımının ardından düşük düzeyde de olsa AIA geliştiği için, insülin tedavisi başlanmış bir kişide ölçülen IAA düzeyi, otoimmun diyabet tanısında doğru bilgi vermez ve bu nedenle genellikle kullanılmaz. İnsülin kullanımı esnasında tedaviye yanıtın azaldığı vakalarda artmış antikor etkisini araştırmak amacı ile AIA ölçülebilir. Ancak günümüzde kullanılan ileri teknoloji ürünü insülinler sayesinde, AIA artışına bağlı tedavi başarısızlığı çok nadirdir.

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 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. Yukarıda da belirtildiği gibi, GAD65 sadece β -hücreleri değil, tüm pankreas adacık hücrelerinden eksprese edilir, dolayısı ile GADA pozitif olan hastada gelişen antikor tüm adacık hücrelerine karşıdır. Diğer otoantijenlerin aksine, GAD'ın hücrel ve humoral immunitiyi uyardığına dair kanıtlar vardır. Dolayısı ile GADA'nın tip 1A diyabette bir gösterge olmasının ötesinde etiyolojik bir faktör olduğuna inanılmaktadır.

GADA ölçümü RIA, RBA veya ELISA ile yapılabilir. Son yıllarda geliştirilen, GAD65'e karşı antikorların ölçüldüğü ticari ELISA kitleri ile RIA'den daha yüksek duyarlılık ve benzer özgüllükte ölçüm yapılabildiği bildirilmektedir (12).

Adacık sitoplazmik antikorlarına benzer şekilde, yeni tanı tip 1A diyabetlilerin %70-80 gibi önemli bir kısmında GADA pozitif bulunur (8) (Tablo 2). Bununla birlikte, normal populasyonda 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 persiste etmesi, retrospektif tanıda, özellikle tanıdan birkaç yıl sonra insüline ihtiyaç gösteren geç başlangıçlı tip 1A diyabet (LADA: latent otoimmune diabetes in the adult, erişkinde gizli otoimmun diyabet) olgularında önemli avantaj sağlar (13). Tekrarlanabilir olması ve daha az fluktuasyon göstermesi testin diğer üstünlükleridir.

Anti-tirozin Fosfataz (IA-2) ve Anti-fogrin (IA-2 β) Antikorları

1994 yılında, 548 aa'dan oluşan ve ICA-512 adı verilen bir proteine karşı tip 1A diyabetli hastalarda antikor bulunduğu saptanmış, bu arada bağımsız başka bir grup 979 aa'dan oluşan protein tirozin fosfataz ailesine mensup bir transmembran proteini olan IA-2'yi tanımlamıştır. Daha sonra bu iki proteini kodlayan bölgenin aynı, ortak olmayan kısmın ise artefakt olduğu anlaşılmıştır. Bu protein günümüzde insülinoma antijenininin 40.000 Dalton ağırlığındaki intraselüler fragmanı olan IA-2 olarak tanımlanmaktadır. IA-2, GAD'a benzer şekilde beyin, pankreas, hipofiz gibi farklı dokulardaki nöroendokrin hücrelerde eksprese edilir.

Anti tirozin fosfataz antikorları RIA, RBA veya ELISA yöntemi ile ticari kitlerle ölçülebilir. IA-2 antikorları ölçümünün GADA'ya göre daha az, IAA'ya göre daha yüksek duyarlılık gösterdiği bilinmektedir. Yeni tanı tip 1 diyabette çocukluk çağındaki olgularda %60-70, erişkinlerde %30-50 oranında pozitif bulunur (8) (Tablo 2). IA-2 antikorları, rezidüel β -hücre fonksiyonu hakkında fikir verir. Yüksek titrasyonlar hızlı progresyon göstergesidir. IA-2 antikorunun hastalığa daha spesifik olduğu bilinmekte, adolesan ve erişkinlerde tip 1A diyabet gelişme riskini en iyi gösteren otoimmun gösterge olarak kabul edilmektedir (14).

Anti-fogrin antikorları, IA-2'ye benzer şekilde, protein tirozin fosfataza benzer bir proteindir ve yine nörosekretuar hücrelerde eksprese edilir. IA-2 β 'ya karşı antikor varlığında hemen hemen her zaman IA-2'ye karşı da antikor bulunmakla beraber, bunun tersi doğru değildir, tip 1A diyabetli hastalardan IA-2 antikor pozitif bulunanların %10'unda IA-2 β antikor negatiftir. Bu nedenle her ikisinin birden taranması yerine IA-2'ye karşı antikor bakılması yeterli kabul edilmektedir. IA-2 ve IA-2 β 'nin intrastoplazmik C-terminal kısımlarının büyük ölçüde homoloji göstermesi, antikor pozitifliklerinin de benzer oranda olmasını açıklamaktadır (15).

Çinko Transporter Antikorları (ZnT8A)

Çinko transporter (ZnT8, Slc30A8) adacık hücrelerinde bir transmembran otoantijenidir. Bu antijene karşı gelişen antikor (ZnT8A) 2007 yılından beri otoimmun diyabet için bir gösterge olarak kabul edilmektedir, ancak kullanımı henüz yaygın değildir.

ZnT8 antikorunu yeni tanı tip 1 diyabette %60-80, kontrol grubunda <%2, tip 2 diyabette <%3, tip 1 diyabetle birlikte göstermesi olası otoimmun hastalıklarda %30 oranında pozitif bulunmuştur. Diğer yöntemlerle "otoantikör negatif" olarak sınıflandırılan hastaların %26'sında ZnT8A pozitif bulunmuştur. GAD ve IA2'nin aksine β -hücresine spesifik olması önemli avantajdır. Bu nedenle, ZnT8A ölçümlerinin adacık yıkım miktarının ve önleyici tedavilerin başarısının takibinde gösterge kullanılabileceği belirtilmektedir (16).

Adacık Otoantikör Tetkikinin Klinik Yararları

Adacık otoantikörlerinin klinik kullanımı iki ana başlıkta incelenebilir: 1. Akut başlayan ve insülin ihtiyacı olan diyabet vakalarında otoimmuniteye bağlı tip 1A diyabeti konfirme etmek ya da klinik olarak ayırımı yapılamayan durumlarda diyabet tipinin ayırımı yapmak, 2. Başta tip 1A diyabetlilerin 1. derece akrabaları olmak üzere tip 1A diyabet açısından yüksek riskli kişileri belirleyip bilgilendirerek diyabeti erken teşhis etmek, mümkünse geciktirmek ve önlemek.

Otoimmun Göstergelerin Diyabet Tipi Ayırımında Kullanımı

İnsülin eksikliğinin çok belirgin olmadığı durumlarda otoimmun diyabet tanısının olabildiğince erken konularak insülin tedavisine gecikmeden başlanmasının hastada kalan β -hücre rezervini korumada etkili olduğu, balayı periyodunu (remisyonu) uzattığı bilinmektedir (17). Bu nedenle şüpheli olgularda otoantikör tetkiki yapıp hasta-

da otoimmün diyabet olup olmadığı netleştirilmelidir. Ayrıca bu hastalarda diğer otoimmün hastalıklara eğilim olması nedeni ile tanının kesinleştirilmesi ve başta tiroid peroksidaz antikor (Anti-TPO) olmak üzere, diğer otoantikorların da bakılarak gerekiyorsa eşlik eden hastalıkların da tedavi edilmesi önerilmektedir.

Diyabet tipi ayırımının önemli olduğu bir hasta gruplarından biri LADA vakalarıdır. Çocukluk çağında özellikle puberte döneminde başlayan tip 1A diyabetin klinik olarak ayırımı kolaydır. Ancak epidemiyolojik çalışmalar tip 1A diyabetin 40 yaş civarında ikinci bir zirve yaptığını göstermektedir. LADA olguları ise genellikle 35 yaş üzerinde ve klinik prezentasyonu nonobez tip 2 diyabet şeklinde olan, dolayısı ile fenotipik olarak geç başlangıçlı tip 1A diyabetle karışabilecek vakalardır. Bu hastalarda insülin direnci hastalığın belirgin bir komponenti değildir. LADA'da başlangıçta medikal beslenme tedavisi ve oral antidiyabetik ilaçlarla regülasyon sağlanabilir, tanıdan sonraki 6 ayda insülin ihtiyacı yoktur, hatta insülin ihtiyacının gelişmesi 10 yılı aşabilir. Fakat çoğu olguda klasik tip 2 diyabete kıyasla daha erken olarak, 5 yıl içinde oral antidiyabetik ilaçlara yanıtızsızlık ortaya çıkar. UKPDS çalışması tip 2 diyabet tanısı konulan hastalarda %12 oranında GADA veya ICA, %4 oranında ise bu otoantikorlardan ikisinin birden pozitif bulunduğunu göstermiştir. Bu hastalarda antikor negatif olanlara kıyasla insülin ihtiyacının gelişmesi çok daha erkendir (13). LADA olgularının erken tanınması insülin tedavisine erken geçerek mevcut pankreas β hücre rezervini korumak bakımından önem taşımaktadır.

Gerek tip 1A gerekse LADA vakalarında otoantikorların pozitif bulunması her iki tablonun otoimmün orijinli olduğunu kanıtlamaktadır. Ancak çalışmalar LADA ve tip 1A diyabetteki otoantikor profilinin farklılıklar gösterdiğini, bu iki tablonun muhtemelen birbirinden ayrı durumlar olduğunu düşündürmektedir. Çocukluk çağında gelişen tip 1A diyabette yukarıda bahsi geçen otoantikorların tümü, sıklıkla pozitifdir. LADA'da ise IA-2 ve insüline karşı gelişen antikorlara tip 1A diyabete kıyasla oldukça az olguda rastlanır. Tip 1A diyabette iki veya daha fazla antikor pozitifliği alışılmış bir bulgu iken LADA'da genellikle sadece bir antikorda pozitiflik vardır (18). Örneğin; bir çalışmada ICA (+) bulunan tip 1A diyabetlilerin %90'ından fazlasında Anti GAD veya IA2 de pozitif iken, LADA vakalarında bu oranın %20'den az olduğu saptanmıştır (19). Araştırmacılar GAD ve IA-2'ye karşı antikor bulunan kişilerde ICA boyanmasının %60'dan fazla hastada bloke olmasına karşılık LADA vakalarında bu duru-

ma çok daha az oranda rastlandığına dikkat çekmektedirler. Bu nedenle LADA'da günümüzde bilinenlerin dışındaki bazı antikorlar varlığından şüphelenilmektedir. Antikor pozitif tip 2 diyabetik hastalarda yapılan bir çalışma, GAD'a karşı antikorların %80'inin orta kısım ve COOH terminale karşı geliştiğini, bu hastaların daha zayıf, C peptid düzeylerinin daha düşük ve insülin tedavi ihtiyacının daha sık olduğunu göstermektedir. Olguların kalan %20'sinde ise antikor sadece orta kısma karşı gelişmekte ve bu kişiler klinik özellikler bakımından GADA (-) kişilere benzer özellikler taşımaktadır (20). Bir başka çalışmada ise tip 1A diyabetli hastaların %90'dan fazlasında GAD antikorunun GAD65'in orta veya COOH terminal kısmına karşı geliştiği, LADA hastalarında bu durumun sadece %65 oranında bulunduğu gösterilmiştir. Aksine, LADA'da %20 vakada NH2 terminaline karşı antikor varken, tip 1A diyabette %5 oranındadır (21). Bu ve benzeri sonuçlar, LADA ve tip 1A diyabette GAD antijeninin farklı bölgelerine karşı antikor geliştiğini, dolayısı ile bu iki hastalığın otoimmün diyabet yelpazesinin farklı tablolarını oluşturduğunu düşündürmektedir. Ancak bu bilgilerin klinik pratikte kullanımına ilişkin yeterli veri bulunmamaktadır.

Diyabet tipine karar vermede ve dolayısı ile tedavi yaklaşımında zorluklar yaşanabilecek bir başka diyabet alt grubu ise hibrit diyabettir. Tip 3 diyabet veya "double diabetes" olarak da isimlendirilen bu tabloda hasta genellikle genç yaşta veya çocuktur, obezite ve insülin direncine diyabetin otoimmün göstergeleri eşlik etmektedir (22). Yani tip 1A ve tip 2 diyabete ilişkin komponentler bir arada bulunmaktadır. Ancak bu hastalarda otoimmün göstergelerin pozitif bulunma oranı tip 1A diyabete kıyasla azdır.

Otoimmün Göstergelerin Diyabetin Erken Tanısında Kullanımı

Günümüzde tip 1A diyabete ilişkin en önemli beklentilerden biri, hastalığın aşikar hale gelmeden önce tespit edilmesi ve prevansiyonudur. Bu sürecin birkaç yıl geciktirilmesinin bile hasta iyiliğinin yanı sıra tedavi masraflarını düşürerek önemli maliyet kazancı sağlayacağı bildirilmiştir (23). Bu amaçla, yüksek riskli vakaların alındığı araştırmalar yapılmaktadır. Yüksek riski belirlemede doku grubu tayinleri yetersiz kalmaktadır. Tip 1A diyabetlilerin 1. derece akrabalarında otoantikorlara bakılması ve bunlara IVGTT (İntravenöz Glukoz Tolerans Testi) yapılarak 1. faz insülin yanıtının bozulduğunun gösterilmesi ile 5 yıl içinde tip 1A diyabet gelişme ihtimali hemen hemen kesin olan vakalar tespit edilebilir (Tablo 4).

Tip 1A diyabeti önlemek amacı ile yüksek risk taşıyan vakaların izlendiği, DPT-1 (Diabetes Prevention Trial-1), ENDIT (European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial), DENIS (The Deutsche Nicotinamide Intervention Study), EPP-SCIT (European Pediatric Prediabetes Subcutaneous Insulin Trial) gibi çalışmalarda hastalığı önlemede başarılı sonuçlar alınmasa da, diyabetin gelişim sürecini ve otoantikor varlığının önemini anlamak bakımından dikkate değer katkılar sağlanmıştır. ENDIT'de tip 1 diyabetli kişilerin birinci derece yakınlarına ICA, IAA, GADA, IA-2A testleri yapılmış, sadece ICA pozitif olanlarda 5 yıl içinde diyabet gelişme riski %2,2 iken, ek olarak 1, 2 veya 3 otoantikor pozitif olması halinde bu oranın sırası ile %17, %39, %70 düzeyine çıktığı saptanmıştır. Çok sayıda antikor pozitifliği sadece spesifik değil, aynı zamanda sensitiftir. ENDIT çalışma grubunda tip 1 diyabetli kişilerin diyabet gelişen yakınlarından %91'inde ICA'ya ek olarak 2 veya 3 antikor pozitifdir (24).

Hastalığın erken tanısı amacı ile düşük riskli asemptomatik bireylerde tip 1A diyabete yönelik otoantikorların taramasının yapılması önerilmemektedir. Ancak, yüksek riskli bireylerin tespit edilmesi ve bilgilendirmenin hastanın semptomatik olduğunda diyabetik ketoasidozla hastaneye başvurma ihtimalini azalttığı DAISY (25) ve DPT-1 (26) çalışmaları ile gösterilmiştir.

Tablo 4: Tip 1 diyabetlilerin 1. derece akrabalarında otoantikor pozitifliği ve diyabet riski

Otoantikor	Risk (%)	
	3 yıllık	5 yıllık
ICA (≥ 20 JDFu)	31	51
IAA	33	59
GADA	28	52
IA-2A	40	81
Kombinasyonlar		
Anti GAD + IAA	41	68
Anti GAD + IA2	45	86
IAA + IA2	47	100
IVGTT-FPIR etkisi*		
≥ 1 pozitif antikor+normal yanıt	16	21
≥ 1 pozitif antikor+bozulmuş yanıt	79	100

*IVGTT-FPIR etkisi: İntravenöz glukoz tolerans testinde ilk faz (1+3 dk) insülin yanıtının etkisi.

Kullanılacak Otoimmün Göstergenin Seçimi ve Yorumlanması

Antikor ölçümlerinde başlıca problemler testlerin yeterince standardize olmaması ve serum düzeylerinin değişken olmasıdır. Ayrıca antikor düzeylerinin dağılımı hasta ve normal kişiler arasında kesişme göstermekte, belirlenen sınır değer antikor pozitif normal kişi ile düşük antikor düzeyi gösteren hasta olguyu ayırt etmekte yetersiz kalmaktadır. Bazı araştırmacılar sınır değerleri belirlerken topluma özgü kontrol grubu oluşturup 99. persantilin üzerinde kalan değerleri pozitif kabul etmeyi önermektedirler, ancak kullanılan ölçüm tekniğinin kalitesi, kontrol grubunun seçim şekli ve büyüklüğü gibi faktörlerin önemi dikkate alındığında bu yöntemin kullanım konusunda da daha fazla kıyaslamalı çalışmaya ihtiyaç olduğu görülmektedir (27).

Klinik kullanımdaki otoantikorlar birbiri ile kıyaslandığında, teorik olarak ICA'nın en iyi tarama testi olduğu kabul edilebilir. Ancak testin otomatize olmaması, zaman alması gibi teknik sorunlar pratikte yaygın kullanımını sınırlamaktadır. GADA ve IA-2A'nın, ICA'ya kıyasla daha kolay ölçülebilmesi ve IAA'ya kıyasla β -hücre otoimmunitisini belirlemede daha duyarlı olması nedeni ile tercih edilmesi önerilmektedir. Pozitif olan otoantikor sayısı arttıkça, bu testlerin tanı koydurma ve diyabeti öngörme güçleri artmaktadır. Eğer dört otoantikor ölçülürse (GADA, IA-2A, IAA ve ICA veya ZnT8A) tip 1 diyabetli hastaların sadece %2-3'ünde otoantikor negatif bulunmakta, %10'dan daha az vakada sadece bir, yaklaşık %70 vakada üç veya dört otoantikor birden pozitif bulunmaktadır (16,28).

Çok sayıda antikorun pozitif bulunması hastalık riski taşıyan kişilerin normal kişilerden ayrılmasında önemli fayda sağlar. Ancak teknik özellikler, maliyet gibi birçok parametre dikkate alındığında pratik çözümlere ihtiyaç olduğu açıktır. Bu nedenle, 5 yaş altındaki hastalarda IAA ve GADA bakılıp negatif bulunur ise, ve şüphe devam ediyorsa ICA ve IA-2 antikorları için test yapılması, >5 yaş olanlarda taramaya IA-2 ve GAD antikorları ile başlanıp gerekirse ICA ile konfirme edilmesi, LADA şüphesinde ise GADA bakılıp gerekirse ICA ile konfirme edilmesi tavsiye edilebilir (15). Ayrıca antikorların IGVTT sonuçları ile beraber değerlendirilmesi prediksyon gücünü arttırmaktadır. Sonuç olarak tip 1A diyabet ya da LADA vakalarının erken tip 2 diyabetten ayırımında adacık otoantikorları önemli testlerdir. Ayrıca tip 1A diyabet için yüksek risk taşıyan kişilerin belirlenmesinde otoantikorların tetkik edilmesinden yararlanılmaktadır. Tanıda birden fazla otoantikorun bir arada pozitif bulunması daha değerlidir. Test sonuçları yorumlanırken bu testlerin -düşük oranda da olsa- normal bireylerde de pozitif olabileceği, tip 1A diyabette ICA testinin flüktüasyon gösterebileceği ve zamanla negatifleşebileceği, IAA testinin insülin başlanmış bir hastada doğru bilgi vermeyeceği dikkate alınmalı, tanıda hastanın klinik durumu ön planda tutularak yorum yapılmalıdır.

Kaynaklar

- American Diabetes Association. Clinical practice recommendations 2011, Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2011;34:62-9.
- Atkinson M. Type 1 diabetes: Immunology. *Oxford Textbook of Endocrinology and Diabete*: in eds Wass JAH, Shalet SM, Gale E, Amiel SA. New York: Oxford University Press: 2002;1459-69.
- Slama G. Type 1 diabetes: An overview. *Textbook of diabetes* 3. Edition: In eds: Pickup JC, Williams G. Berlin; Blackwell Publishing Company: 2003;3:1-3.
- Winter WE. The use of islet autoantibody markers in the prediction of autoimmune type 1 diabetes. *Clinical immunology Newsletter* 1999;19:25-39.
- Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D. Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiency. *Lancet* 1974;2:1279-83.
- Lernmark A, Freedman ZR, Hofmann C, Rubenstein AH, Steiner DF, Jackson RL, Winter RJ, Traisman HS. Islet-cell-surface antibodies in juvenile diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1978;299:375-80.
- Büyükdeyrim AS. Preklinik dönemin tanısında metabolik ve immunolojik kriterler. *Diyabetolojiye Giriş* In eds: Büyükdeyrim AS. İstanbul: 1996;137-54.
- Seissler J, Scherbaum WA. Autoimmune diagnostics in diabetes mellitus. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:133-7.
- Riley WJ, Maclaren NK, Krisher J, Spillar RP, Silverstein JH, Schatz DA, Schwartz S, Malone J, Shah S, Vadheim C. A prospective study of the development of diabetes in relatives of patients with insulin-dependent diabetes. *N Engl J Med* 1990;323:1167-72.
- Tütüncü Y. Tip 1 diyabetlilerin 1. derece akrabalarında adacık antikor (ICA) prevalansı: Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Kütüphanesi: 1998.
- Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, Lyen K, Tatpati O, Raghu PK, Paquette TL. Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. *Science* 1983;222:1337-9.
- Tsirogiani A, Pipi E, Soufleros K. Specificity of islet cell autoantibodies and coexistence with other organ specific autoantibodies in type 1 diabetes mellitus. *Autoimmunity Rev* 2009;8:687-91.
- Turner R, Stratton I, Horton V, Manley S, Zimmet P, Mackay IR, Shattock M, Bottazzo GF, Holman R. UKPDS 25: autoantibodies to islet-cell cytoplasm and glutamic acid decarboxylase for prediction of insulin requirement in type 2 diabetes. *UK Prospective diabetes Study Group. Lancet* 1997;350:1288-93.
- Achenbach P, Warncke K, Reiter J, Naserke HE, Williams AJ, Bingley PJ, Bonifacio E, Ziegler AG. Stratification of type 1 diabetes risk on the basis of islet autoantibody characteristics. *Diabetes* 2004;53:384-92.
- Isermann B, Ritzel R, Zorn M, Schilling T, Nawroth PP. Autoantibodies in Diabetes Mellitus: Current Utility and Perspectives, *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2007;115:483-90.
- Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, Moua O, Sarkar SA, Gottlieb P, Rewers M, Eisenbarth GS, Jensen J, Davidson HW, Hutton JC. The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104:17040-5.
- Shah SC, Malone JI, Simpson NE. A randomized trial of intensive insulin therapy in newly diagnosed insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1989;320:550-4.
- Palmer JP, Hampe CS, Chiu H, Goel A, Brooks-Worrell BM. Is latent autoimmune diabetes in adults distinct from type 1 diabetes or just type 1 diabetes at an older age? *Diabetes* 2005;54:62-7.
- Seissler J, DeSonnville JJJ, Morgenthaler NG, Steinbrenner H, Glawe D, Khoo-Morgenthaler UY, Lan MS, Notkins AL, Heine RJ, Scherbaum WA. Immunological heterogeneity in type 1 diabetes: presence of distinct autoantibody patterns in patients with acute onset and slowly progressive disease. *Diabetologia* 1998;41:891-7.
- Falorni A, Gambelunghe G, Forini F, Kassi G, Cosentino A, Candeloro P, Bolli GB, Brunetti P, Calcinaro F. Autoantibody recognition of COOH terminal epitopes of GAD65 marks the risk for insulin requirement in adult-onset diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:309-16.
- Hampe CS, Kockum I, Landin-Olsson M, Torn C, Örtqvist E, Persson B, Rolandsson O, Palmer JP, Lernmark Å. GAD65 antibody epitope patterns of type 1.5 diabetes patients are consistent with slow onset autoimmune diabetes. *Diabetes Care* 2002;25: 1481-2.
- Pozzilli P, Buzzetti R. A new expression of diabetes: double diabetes. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2007;18:52-7.
- Hahl J, Simell T, Kupila A, Keskinen P, Knip M, Ilonen J, Simell O. A simulation model for estimating direct costs of type 1 diabetes prevention. *Pharmacoeconomics*. 2003;21:295-303.
- European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial Group. Intervening before the onset of Type 1 diabetes: baseline data from the European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT). *Diabetologia* 2003;46:339-46.
- Barker JM, Goehrig SH, Barriga K, Hoffman M, Slover R, Eisenbarth GS, Norris JM, Klingensmith GJ, Rewers M; DAISY study. Clinical characteristics of children diagnosed with type 1 diabetes through intensive screening and follow-up. *Diabetes Care* 2004;27:1399-404.
- Triolo TM, Chase HP, Barker JM; DPT-1 Study Group. Diabetic subjects diagnosed through the Diabetes Prevention Trial-Type 1 (DPT-1) are often asymptomatic with normal A1C at diabetes onset. *Diabetes Care* 2009;32:769-73.
- Bingley PJ. Clinical applications of diabetes antibody testing. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:25-33.
- Bingley PJ, Bonifacio E, Williams AJ, Genovese S, Bottazzo GF, Gale EA. Prediction of IDDM in the general population: strategies based on combinations of autoantibody markers. *Diabetes* 1997;46:1701-10.