

**GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TİP I DİABETES MELLİTUS'LU ÇOCUK VE ADOLESANLARDA
LENFOSİT SUBGRUPLARI, APOPTOZİS VE İNTERLÖKİN -1 BETA
DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ömer Alper SÖZÜDÜZ

Tez Danışmanı : Prof. Dr. M. Yavuz COŞKUN

Gaziantep-2003

**GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**TİP I DİABETES MELLİTUS'LU ÇOCUK VE ADOLESANLARDA
LENFOSİT SUBGRUPLARI, APOPTOZİS VE İNTERLÖKİN - 1 BETA
DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Ömer Alper SÖZÜDÜZ

Tez Danışmanı : Prof. Dr. M. Yavuz COŞKUN

Gaziantep 2003

İÇİNDEKİLER

| | SAYFA NO |
|---|----------|
| ÖNSÖZ..... | III |
| KISALTMALAR..... | IV |
| TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ..... | VI |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ..... | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER..... | 2 |
| 2.1. DİABETES MELLİTUS..... | 2 |
| 2.1.1. TARİHÇE..... | 2 |
| 2.1.2. SINIFLAMA..... | 3 |
| 2.1.3. EPİDEMİYOLOJİ..... | 3 |
| 2.1.4. ETYOPATOGENEZ..... | 6 |
| 2.1.4.1. Genetik yatkınlık..... | 6 |
| 2.1.4.2. Çevresel faktörler..... | 7 |
| 2.1.4.3. Otoimmünite..... | 8 |
| 2.1.5. FİZYOPATOLOJİ..... | 10 |
| 2.1.6. KLİNİK BULGULAR..... | 12 |
| 2.1.6.1. Tip I diyabetin klinik dönemleri..... | 13 |
| 2.1.6.1.1. Preklinik dönem..... | 13 |
| 2.1.6.1.2. Erken klinik dönem..... | 13 |
| 2.1.6.1.3. Klinik dönem..... | 13 |
| 2.1.6.1.4. İleri klinik dönem..... | 13 |
| 2.1.7. TANI..... | 14 |
| 2.1.8. KOMPLİKASYONLAR..... | 15 |
| 2.1.8.1. Akut komplikasyonlar..... | 16 |
| 2.1.8.2. Subakut komplikasyonlar..... | 19 |
| 2.1.8.3. Kronik komplikasyonlar..... | 19 |
| 2.2. İMMUN SİSTEM..... | 21 |
| 2.2.1. Hücresel immünite..... | 22 |
| 2.2.1.1. T lenfositleri..... | 22 |
| 2.2.1.2. T lenfosit subgrupları..... | 22 |
| 2.2.1.3. Apoptozis (CD95 – Fas / APO – 1)..... | 25 |
| 2.2.1.4. CD45RA (Naive) ve CD45RO (Memory) T lenfositleri... .. | 27 |
| 2.2.2. Hümorale immünite..... | 27 |
| 2.2.2.1. İmmunglobulinler..... | 28 |

| | |
|--|----|
| 2.3. SİTOKİNLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ..... | 29 |
| 2.3.1. İnterlökin 1..... | 30 |
| 3. MATERYAL VE METOD..... | 31 |
| 4. BULGULAR..... | 34 |
| 5. TARTIŞMA..... | 43 |
| 6. SONUÇ..... | 51 |
| 7. ÖZET..... | 52 |
| 8. İNGİLİZCE ÖZET..... | 53 |
| 9. KAYNAKLAR..... | 54 |

ÖNSÖZ

Asistanlığım süresince yetişmemde emeği geçen hocalarım, Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. M. Yavuz COŞKUN, Prof. Dr. Metin KILINÇ, Doç. Dr. Ziya BAYRAKTAROĞLU, Doç. Dr. Ayşe BALAT, Yrd. Doç. Dr. Ercan SİVASLI, Yrd. Doç. Dr. Elif GÜLER, Yrd. Doç. Dr. Kutluhan YILMAZ'a, tezimin hazırlanmasında yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Yıldırım Bayazıt, Yrd. Doç. Dr. Ercan SİVASLI, Uzman Dr. M. Ender ÇİFTÇİ'ye, Pediatrik Hematoloji çalışanları Uzm. T. Bio. Gülper KOYUNCU ve Uzm. T. Bio. Serdar ÖZTUZCU'ya, katkılarını esirgemeyen tüm mesai arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ömer Alper SÖZÜDÜZ

KISALTMALAR

| | |
|-------|--|
| APC | :Antigen Presenting Cell (Antijen sunan hücre) |
| CD | : Clusters of differentiation (Monoklonal antikor grupları) |
| CSF | : Coloni stimulating factor (Koloni stimüle edici faktör) |
| DKA | : Diyabetik ketoasidoz |
| DM | : Diabetes Mellitus |
| DNA | : Deoksiribonükleik asit |
| GAD | : Glutamik asit dekarboksilaz |
| GADA | : Glutamik asit dekarboksilaz antikor |
| HLA | : Human leucocyte antigen (İnsan lökosit antijeni) |
| IAA | : Insulin auto antikor (İnsülin oto antikor) |
| IBDM | : İnsüline bağımlı Diabetes Mellitus |
| IBODM | : İnsüline bağımlı olmayan Diabetes Mellitus |
| ICA | : Islet cell antibody (Adacık hücre antikor) |
| IDF | : International Diabetes Federation (Uluslararası diyabet federasyonu) |
| IFN | : Interferon |
| Ig | : İmmünglobulin |
| IL | : İnterlökin |
| ISPAD | : International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes |
| K | : Killer |
| LPS | : Lipopolisakkarit |
| MHC | : Major Histocompatibility Kompleks |
| MODY | : Maturity onset diabetes of young (Gençlerde görülen erişkin diyabet) |
| MRDM | : Malnutrition related diabetes mellitus (Malnutrisyonla ilgili diyabet) |
| NK | : Natural Killer |
| NO | : Nitrik oksit |
| NOS | :Nitrik oksit sentetaz |
| OGTT | :Oral glukoz tolerans testi |

| | |
|-----|---|
| RNA | : Ribonükleik asit |
| TCR | : T cell receptor (T hücre yüzey reseptörü) |
| TNF | : Tumor necrosing factor (Tümör nekroz faktör) |
| TC | : Cytotoxic T lymphocyte (Sitotoksik T lenfosit) |
| TH | : Helper T lymphocyte (Yardımcı T lenfosit) |
| TI | : Inducer T lymphocyte (İndükleyici T lenfosit) |
| TS | : Supressor T lymphocyte (Baskılayıcı T lenfosit) |
| WHO | : World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü) |

TABLO VE ŞEKİLLER

| TABLO : | SAYFA NO |
|--|----------|
| 1- Çocuk ve adolesanlarda diyabetin sınıflaması (ISPAD – IDF/ WHO European REGION Policy Group,1995)..... | 4 |
| 2- İnsüline bağımlı Diabetes Mellitus'un etyolojik sınıflandırılması..... | 5 |
| 3- Diyabetik hasta ile yakınlık derecesine göre Tip I diyabet gelişme riski..... | 7 |
| 4- IBDM gelişimindeki risk faktörlerinin etyopatogenezdeki rolleri..... | 8 |
| 5- Yabancı antijen ile pankreatik antijenlerin benzerliğine örnekler..... | 9 |
| 6- İnsülinin metabolik etkileri..... | 11 |
| 7- Çocuklarda Diabetes Mellitus'un tanı kriterleri..... | 14 |
| 8- Klinik hipogliseminin derecesine göre semptomlar | 18 |
| 9- Kontrol ve Çalışma gruplarının genel değerlendirilmesi..... | 34 |
| 10- Çalışma ve Kontrol gruplarında CD3, CD4, CD8 düzeyleri..... | 35 |
| 11- Yeni Tanı Grubu ve Kontrol Grubunda CD3,CD4,CD8 düzeyleri..... | 35 |
| 12- Uzun Dönem Grubu ve Kontrol Grubunda CD3,CD4,CD8 düzeyleri..... | 35 |
| 13- Yeni Tanı Grubu ve Uzun Dönem Grubunda CD3,CD4,CD8 düzeyleri..... | 36 |
| 14- Çalışma ve Kontrol gruplarında CD95 düzeyi..... | 37 |
| 15- Yeni Tanı Grubu ve Kontrol Grubunda CD95 düzeyi..... | 37 |
| 16- Uzun Dönem Grubu ve Kontrol Grubunda CD95 düzeyi..... | 37 |
| 17- Yeni Tanı Grubu ve Uzun Dönem Grubunda CD95 düzeyi..... | 37 |
| 18- Çalışma ve Kontrol gruplarında CD45RA ve CD45RO düzeyleri..... | 38 |
| 19- Yeni Tanı Grubu ve Kontrol Grubunda CD45RA ve CD45RO düzeyleri..... | 38 |
| 20- Uzun Dönem Grubu ve Kontrol Grubunda CD45RA ve CD45RO düzeyleri... | 38 |
| 21- Yeni Tanı Grubu ve Uzun Dönem Grubunda CD45RA ve CD45RO düzeyleri..... | 39 |
| 22- Çalışma ve Kontrol gruplarında intrasitoplazmik IL-1 β düzeyi..... | 40 |
| 23- Yeni Tanı Grubu ve Kontrol Grubunda intrasitoplazmik IL-1 β düzeyi..... | 40 |
| 24- Uzun Dönem Grubu ve Kontrol Grubunda intrasitoplazmik IL-1 β düzeyi..... | 40 |
| 25- Yeni Tanı Grubu ve Uzun Dönem Grubunda intrasitoplazmik IL-1 β düzeyi.... | 40 |
| 26- Otoimmün Tip I Diabetes Mellitus'lu çocuk ve adolesanlar ile kontrol gruplarında T lenfosit subgrupları ve IL-1 β düzeyinin karşılaştırılması..... | 41 |

TABLO VE ŞEKİLLER

| ŞEKİL : | SAYFA NO |
|---|----------|
| 1- İnsan T lenfositlerinde bulunan majör reseptörler..... | 23 |
| 2- Çalışma ve kontrol gruplarında CD3, CD4, CD8 düzeyleri..... | 36 |
| 3- Çalışma ve kontrol gruplarında CD95 düzeyi..... | 37 |
| 4- Çalışma ve kontrol gruplarında CD45RA ve CD45RO düzeyi..... | 39 |
| 5- Çalışma ve kontrol gruplarında intrasitoplazmik IL-1 β düzeyi..... | 41 |
| 6- Otoimmün Tip I Diabetes Mellitus'lu çocuk ve adolesanlar ile kontrol grubunda T lenfosit subgrupları ve IL-1 β düzeylerinin karşılaştırılması..... | 42 |

GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes Mellitus, insülinin salgılanmasında ya da etkisinde yetersizlik sonucu gelişen, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozukluğudur. Çocukluk ve adolesan döneminin en sık görülen endokrin – metabolik bozukluğu olan diabetes mellitus, tek bir hastalık tablosu olmayıp, etyoloji, patogenez ve genetik yönden farklılıklar gösteren hastalıklar grubudur (1). Hastalığın seyri boyunca nefropati, retinopati, periferik ve otonomik nöropati gibi mikrovasküler komplikasyonlar görülür (2). Makrovasküler komplikasyon olarak da, aterosklerotik koroner, serebral ve periferik arter hastalığı görülür. Metabolik kontrolün kötü olduğu hastalarda komplikasyonlar önemini korumakta, morbidite ve erken mortaliteye yol açması nedeniyle önemli bir sorun olmaya devam etmektedir.

Biz bu çalışmada Tip 1 Diabetes Mellitus'lu çocuk ve adolesanlarda ikincil haberci ve sinyalizasyon rolü oynayan, insan pankreatik beta hücrelerine toksik etki gösteren İnterlökin - 1 β sitokininin, yardımcı T lenfosit, sitotoksik T lenfosit, total T lenfosit, T hücre aktivasyonunda rol alan CD45RA (naive) ve CD45RO (memory) yüzey markerları ile apoptozisi indükleyen CD95 reseptörünün nasıl bir değişiklik gösterdiğini tesbit etmeyi amaçladık. Bu sayede Tip I Diabetes Mellitus'lu hastaların otoimmün kökenlerini araştırıp, bu parametrelerin otoimmüniteyle ilişkisinin araştırılması hedeflendi.

GENEL BİLGİLER

2.1. DİABETES MELLİTUS

Diabetes Mellitus, insülinin mutlak veya fonksiyonel eksikliği sonucu ortaya çıkan, hiperglisemi ile seyreden, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasının bozukluğuyla karakterize, çocuk ve adolesanlarda en sık görülen endokrin metabolik hastalıktır (2). Diabetes Mellitus genel olarak iki gruba ayrılır. İlk grubu pankreasın adacık hücrelerinin primer hasarına bağlı parsiyel veya komplet insülin eksikliği, ikinci grubu ise doku seviyesinde insülin rezistansı oluşturur. İkinci grupta insülin sentezi ve salınımında bozukluk yoktur veya minimaldir. Diyabetin bu iki formu, genetik, patolojik ve klinik yönleri ile birbirinden farklıdır. Klinik seyir ve prognozları da ayrıdır.

2.1.1. TARİHÇE

Diabetes Mellitus hakkında ilk bilgilere M.Ö. 1550 yılında Ebers papürüslerinde rastlanmıştır. Diyabet terimi ilk kez M.S. (130-200) yılları arasında yaşayan Kapadokya'lı Türk Hekim Aretaeus tarafından kullanılmıştır (3). 1674 yılında Thomas Willis, ilk kez diyabetik idrarın tatlılığından M.S. 6. yüzyılda yaşayan Hintli Bilginlerin bahsettiğini ifade etmiştir. İdrarın bal ve tatlı karışımı bir tadı olması nedeniyle hastalığa Diabetes Mellitus adını vermiştir. 1775 yılında Mattheus Dobson idrarın şekerli tadının şekerden kaynaklandığını ve aynı hastaların serumlarında tatlı olduğunu göstermiştir.

1500 yıldır böbreğin su tutma yeteneğinin yetersizliğinin diyabete yol açtığına inanılıyordu. Von Mering ve Minkowski, 1890 yılında total pankreatominin köpeklerde diyabetes mellitusa yol açtığını göstermiş, bunu izleyen 10 yılda adacık hücre fonksiyonları ortaya çıkarılmış, diyetin hastalığın seyrindeki önemi anlaşılmış ve böylece diyet tedavisi gündeme girmiştir. 1922 yılında

Banting ve Best'in insülini keşfetmesi, insan diyabetinin tedavisinde dönüm noktası olmuştur. Daha sonra kısa ve uzun etkili insülinler çeşitli kimyasal yollarla elde edilmiştir. Hagedor ilk kez NPH insülini keşfetmiştir. Son 20 yılda, rekombinan DNA tekniği ile E.Coli'den insan insülin molekülü sentez edilmiş ve tedavideki yerini almıştır.

2.1.2. SINIFLAMA

Daha önceleri diyabet juvenil ve adult olmak üzere iki tipe ayrılırdı. Ancak bu ayrımın, Diabetes Mellitus'un daha önemli özelliklerini belirtmede yeterli olamayacağı düşüncesinden hareketle, 1979 yılında ABD'de National Diabetes Data Group diyabetin gerçek bir sınıflamasını yaptı. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 1980 ve 1985 yıllarında bu sınıflamayı yeniden düzenledi. Bu sınıflama sayesinde birtakım kavramlar yeniden düzenlenerek bu konudaki terim karmaşasının sonlandırılması amaçlandı. Daha önce kullanılan juvenil diyabet veya juvenil başlayan diyabet ifadesi yerine, insüline bağımlı Diabetes Mellitus (İBDM) veya Tip 1 Diabetes Mellitus terimi kullanılmaya başlandı. Erişkin yaşta ortaya çıkan diyabet ise, insüline bağımlı olmayan diyabet (İBODM) veya Tip 2 Diabetes Mellitus olarak adlandırıldı. Asemptomatik diyabet, kimyasal diyabet, borderline diyabet veya latent diyabet terminolojileri yerine, bozulmuş glukoz toleransı kullanıma girmiştir (4). International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes (ISPAD), International Diabetes Federation (Europe, IDF) ve World Health Organization 1995 yılında çocuk ve adolesanlarda diyabetin sınıflamasını yeniden yaptılar (4-5). Tablo 1'de çocuk ve adolesanlarda diyabetin sınıflaması verilmiştir. Diabetes Mellitus etyolojik özelliklerine göre sınıflandırılabilir. Çocuk ve adolesanlarda diyabetin etyolojik sınıflaması Tablo 2'de verilmiştir.

2.1.3. EPİDEMİYOLOJİ

Tip 1 diyabet insidansı yaş, ırk, coğrafi bölge ve mevsim ile değişkenlik gösterir (4). Tip 1 DM, cinse ve sosyoekonomik duruma göre farklılık göstermez. Diyabetin ortaya çıktığı doruk yaşlar 5-7 yaş ve puberte yaşlarıdır. Bu bulgu, okula başlama ile enfeksiyonlara maruz kalma ve pubertede insülin antagonisti hormonların

(gonad hormonları ve büyüme hormonu) artışı ve puberte dönemi streslerinin etkisi olarak açıklanmaktadır (1-2).

Tablo 1: Çocuk ve adolesanlarda diyabetin sınıflaması (ISPAD-IDF-WHO,1995).

| TİP | BAŞLICA ÖZELLİKLER |
|--|---|
| İnsüline bağımlı diyabetes mellitus (Insulin dependent diabetes mellitus) , IDDM tip I diyabet , otoimmün diyabet | Çocuklarda görülen diyabetin tamamına yakını bu tiptedir. Ketozis belirgindir. |
| İnsüline bağımlı olmayan diyabetes mellitus (Non -insulin dependent diabetes mellitus, NIDDM, tip II diyabet, Non insulin dependent diabetes in the young (NIDDY). | Çocuklarda nadirdir. Genellikle obezite ile beraberdir. |
| Gençlerde görülen erişkin tip diyabet (Maturity onset Diabetes of young, MODY) | NIDDM'un dominant geçiş gösteren formudur. |
| Neonatal diyabet | Nadirdir, geçici olabilir. |
| Pankreas agenezisi veya gelişim anomalisi | Çok nadirdir, bazen genetik olabilir. |
| Mitokondrial DNA defektlerine bağlı diyabet | Sağlıklı veya renal anomalilerle birlikte olabilir. |
| Malnutrisyonla ilgili diyabet (Malnutrition related diabetes mellitus ; MRDM) | Tropikal ülkelerde adolesan ve genç erişkinlerde tanımlanmıştır. |
| İnsülin rezistan diyabet | İnsülin, insülin reseptörü veya postreseptör seviyesindeki bozukluklara bağlıdır. Çocuklarda birkaç şekli vardır. |
| Gestasyonel diyabet | Hamilelik esnasında geçici bir durumdur. Bu vakaların bir kısmı IDDM veya NIDDM geliştirir. |
| Enfeksiyon veya travma esnasında görülen geçici glukoz intoleransı | Prediyabetin bir formu olarak kabul edilir. |
| Otoimmün nedenli olmayan pankreas hasarına bağlı gelişen IBDM | Kistik fibrozis, thalasemia |
| IDDM ve NIDDM'in diğer hastalık veya sendromlara eşlik etmesi | Genetik sendromlar, kromozomal bozukluklar, ilaca bağlı (Steroid, diazoksit vs.) diğer otoimmün hastalıklar |

Tablo 2: İnsüline bağımlı Diabetes Mellitus'un etyolojik sınıflandırılması (4).

-
- 1 - Pankreasın beta hücrelerinin idiyopatik otoimmün hasarı
 - 2 - Poliglandüler otoimmün sendrom tip II (Schmidt sendromu)
 - 3 - Viral enfeksiyonların neden olduğu beta hücre hasarı
 - Konjenital rubella
 - Koksaki virus
 - Sitomegalovirus
 - Diğer
 - 4 - Pankreas dokusunun azalması
 - Akut pankreatit
 - Kronik pankreatit
 - Konjenital pankreatik hipoplazi
 - Pankreatektomi
 - 5 - Beta hücre hasarı yapan kimyasal maddeler
 - 6 - Genetik sendromlar
 - Wolfram sendromu
 - Friedrich ataksisi
 - 7- Diğer (Kesin olarak tanımlanamayan nedenlerle insülin salgısının azalması)
-

ABD'de okul çocuklarında diyabet prevalansı 1.9:1000'dur. Sıklık yaş ilerledikçe artmaktadır, örneğin 5 yaşında 1:1430 iken, 16 yaşında 1:360'dir. Çocukluk diyabetinin sıklığı çeşitli toplumlarda ve coğrafi bölgelerde farklılıklar göstermektedir. İnsidansın en yüksek olduğu yerler Finlandiya (34.9 yeni vaka:100000/yıl), Sardunya (32.4:100000/yıl), en düşük olduğu yerler ise uzakdoğu ülkeleridir (Japonya'da 1:100000/yıl). Türkiye'de ise, insidans yüksek olmayıp komşu ülkelere benzerdir (1).

İBDM insidansında mevsimsel farklılıklarda vardır. En yüksek insidans ilkbahar ve sonbaharda, en düşük yaz aylarında görülmektedir (1). Mevsimsel değişiklikler puberte döneminde daha belirgindir (2,6-7). Viral enfeksiyonlarla hastalık arasında

ilişki olduğu kabul edilmektedir. Kabakulak ve konjenital rubella geçirenlerde risk artmaktadır (2).

2.1.4. ETYOPATOGENEZ

Hastalığın etyolojisinde rol oynayan faktörler genetik yatkınlık, otoimmünite ve çevresel faktörler olmak üzere üç ana grupta incelenebilir.

2.1.4.1. Genetik Yatkınlık

İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus, genetik yatkınlığı olan bireyde pankreasın adacık hücrelerinin yıkımı ile seyreden otoimmün bir hastalıktır. Kalıtsal olarak belirli HLA tiplerini taşıyan ve bu nedenle otoimmün hücre yıkımına yatkınlığı olan bireylerde, kesin olarak bilinmemekle birlikte muhtemelen bir virüs veya toksik ajanın bu süreci başlattığı düşünülmektedir (8-10). Diyabet etyopatogenezinde rol oynayan birden fazla gen tanımlanmıştır. Günümüzde insan genom analizleri ile birbirinden farklı yirmi kromozomal bölgenin ve bu bölgeler üzerindeki genlerin IBDM ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (11). Bunların en önemlileri 2, 6, 11, ve 15. kromozomlar ve bunların ilgili lokuslarıdır. Tanımlanan kromozomlardaki diyabetik lokusların aynı kişide bulunması, diyabet gelişimini önemli derecede arttırmaktadır. Hastalığa yatkınlık ve rezistans özellikle 6 numaralı kromozomun kısa kolu üzerindeki major histokompatibilite kompleksinin (MHC) polimorfik HLA olarak bilinen kısmı ile yakın ilişkilidir. HLA sınıf II lokus üzerinde bulunan DR ve DQ alellerinin diyabet gelişmesindeki rolü büyüktür. HLA-DR antijenlerinden HLA-DR3 veya HLA-DR4'ün tek başına veya bu iki antijenin aynı kişide bulunması hastalık riskini artırmaktadır. Bunların dışında HLA-DR1, DR8, DR16 genotipler tip I diyabete yatkınlık oluştururken, HLA-DR11 veya HLA-DR15 mevcudiyeti de koruyucu olmaktadır (12-13).

Tip I DM'a yatkınlık, polijenik multifaktöryel kalıtımla geçer (14). Bir bireyde diyabet geliştirme riski, diyabetik hasta ile akrabalık ilişkisinin derecesine göre belirgin farklılıklar göstermektedir (13) (Tablo 3).

Tablo 3: Diyabetik hasta ile yakınlık derecesine göre Tip I diyabet gelişme riski

| Diyabetik hasta ile yakınlık derecesi | RİSK(%) |
|--|---------|
| Normal bireyler | 0,4 |
| <i>Diyabetli hastanın diyabetik olmayan akrabaları</i> | |
| Anne ve baba | 3 |
| Çocuğu | 6 |
| Baba hasta ise | 8 |
| Anne hasta ise | 3 |
| Kardeş | 5 |
| Aynı yumurta ikizi | 33 |
| HLA-benzer kardeş | 15 |

2.1.4.2. Çevresel Faktörler

Genetik yatkınlığı olan bireylerde, çevresel faktörlerin etkisiyle otoimmün fenomen başlamakta ve sonuçta insüline bağımlı diyabet gelişmektedir (12,15-17). Tablo 4'te IBDM gelişiminde bilinen risk faktörleri, etyopatogenezdeki rolü dikkate alınarak özetlenmiştir (10).

Viral enfeksiyonlar direkt sitolitik etki veya otoimmün mekanizmalarla beta hücre hasarını başlatır. Moleküler benzerlik yolu ile virus antijenine karşı gelişen antikor, adacık hücrelerini tahrip ederek insülinitis oluşturur. Bazı virusların (kabakulak, coxsackie B4 ve diğer enteroviruslar) pankreatropik olduğu bilinmektedir. Kabakulak, rubella, coxsackie B4 ve suçiçeği epidemilerinden sonra Tip I diyabet insidansında artışlar görülmüştür. Reovirus, retrovirus, ensefalomiyokardit viruslarının da insülinitis yapabildiğine ve IBDM gelişimine katkıda bulduklarına dair kanıtlar vardır (1,10, 18-20).

Çeşitli kimyasal ajanların adacık hücrelerini tahrip ederek Tip I diyabete sebep olduğu bilinmektedir. Streptozotosin, Alloxan, Vacor, Klorozotosin, Siproheptadin, Pentamidin, Siklosporin bu ajanlara örnek olarak gösterilebilir (10,13,21-23).

Tablo 4: IBDM gelişimindeki çevresel risk faktörlerinin etyopatogenezdeki rolleri

| | |
|--|---|
| Başlatıcı faktörler | Viral enfeksiyonlar Anne-çocuk kan uyumsuzluğu İnek sütü proteini Nitrözaminler |
| Ortaya çıkarıcı ve/veya ilerletici faktörler | Sık enfeksiyonlar Karbonhidrat ve proteinden zengin gıda alımı Soğuk iklim Artmış büyüme hızı Stresli yaşam tarzı |
| Sinerjistik etki edenler | Nitrözaminler ve enfeksiyonlar |

Stresler, hipotalamus-hipofiz-adrenal aksı etkileyerek steroid salgılanmasını ve insülin ihtiyacını artırmakta, diyabetin aşikar hale gelmesini sağlayabilmektedir (10,13,24).

Özellikle antioksidan etkisi olan C ve E vitamini eksikliklerinde diyabet geliştiği gözlenmiştir. Diyetle antioksidan maddelerin eksikliği sonucu oluşan serbest radikaller adacık hücrelerini tahrip etmektedir (12). Krom, çinko ve selenyum gibi eser elementlerin eksikliği hem glukoz intoleransına hem de diyabetin komplikasyonlarına yol açabilmektedir.

Fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, diyetin özellikle soya fasulyesi ve buğday gluteni içermesi durumunda, diyabet gelişme oranı %45-60'a yükselmektedir. Buna karşın protein kaynağı olarak inek sütü kazeini, karbonhidrat olarak nişasta ve sükröz, yağ olarak mısır yağı, posa olarak selüloz verilen ve eser elementler ile desteklenen grupta diyabet gelişme oranı çok düşük bulunmuştur (1).

2.1.4.3. Otoimmünite

Otoimmünitenin başlaması, immün sistemin kendi antijenlerine gösterdiği toleransın kaybedilmesi ve onları yabancı antijen gibi algılamasıyla başlar. Kişinin

kendi antijenleri ile aynı antijenik bölümleri taşıyan yabancı bir antijen, immün sistemi aktive ederek, moleküler benzerlik nedeni ile otoimmün olayı başlatabilir (10). Yabancı antijen ile pankreatik antijenlerin benzerliğine örnekler Tablo 5'de görülmektedir.

Tablo 5 : Yabancı antijen ile pankreatik antijenlerin benzerliğine örnekler

| Pankreatik antijen | Yabancı antijen |
|--------------------|--------------------------------------|
| GAD | Koksaki virus PC2 proteini |
| KA 69 | Sığır serum albüminin ABBOS proteini |
| 38kDa | Sitomegalovirus |

Otoimmün olayın başlamasını takiben humoral ve hücreyel immün sistemin komponentleri harekete geçer. Diyabetli hastalar ve diyabet gelişme riski taşıyan yakınlarında saptanan pankreas dokusuna karşı otoantikörler adacık antijenlerine bağlanarak doku yıkımını başlatabilir. Yeni tanı alan vakalarda hassas ve spesifik Radioimmünassay (RIA) yöntemi ile ölçülen insülin otoantikörleri pozitifliği % 30-40 civarındadır. Bu vakalarda GAD-65 proteinine karşı antikörlerin yüksek oranda pozitif olduğu bildirilmektedir (10,12).

Bu üç antikordan başka, karboksipeptidaz H, adacık hücresi, insülin sekretuar granül, glukoz taşıyıcı (GLUT-23) proteine ve adacık hücrelerindeki sülfatidlere karşı otoantikörler tespit edilmiştir (10,13).

Virüsler ya da toksinlerle doğal yapısı bozulan beta hücreleri, salgıladığı sitokinlerle (IFN-A, antijenik peptidler) immün sistem elemanlarını uyarır. İlk aşamada, endotelial hücre yüzeyinde ve diğer nükleuslu hücre yüzeyinde bulunan HLA Class I molekülleri hiperekspresse olur. CD8+ sitotoksik T lenfositleri aktive olur ve beta hücrelerine karşı non-spesifik immün aktivasyonu başlatır (25). CD8+ sitotoksik T hücrelerinin tek başlarına diyabet oluşturma yetenekleri kuşkuludur. Eğer, kişide diyabet açısından yatkınlık genleri varsa, antijenik stimulusla beta hücre yüzeyinde ya da makrofaj yüzeyindeki MHC Class II molekülleri hiperekspresse olur ve IL-1 ile uyarılmış CD4+ T hücre yüzey reseptörü (TCR) ile birleşerek spesifik otoimmün reaksiyonun başlamasına neden olurlar (26). Antijen

sunan hücre (APC) yüzeyindeki MHC Class II molekülleri ile T lenfosit yüzeyindeki reseptör (TCR) – CD3 birleşmesi aşamasında adezyon molekülleri önemli rol oynar. Aktive makrofaj veya APC CD4+ T lenfositlerinin birleşmesi ile T lenfositleri aktive olur (27). Tip I DM'ta, CD4+, CD45RA+/RO+ işaretli aktive T lenfositlerinin artmış, CD45RA+ inaktif T lenfositleri oranının azalmış olarak bulunması bunun en önemli kanıtıdır (28). Aktive T lenfositleri IL-1 β , TNF- α ile, sitotoksik makrofajlar ise, nitrik oksit (NO), TNF- β ve IFN- γ salınımı ile destrüktif insüliniti başlatırlar. IL-1 β hücrelere direkt sitotoksik etki yapabilir (29).

Geç faz immün aktif dönem, inflamatuvar ve inflamasyon dönemi ya da insülinitis olarak değerlendirilir. Adacıklar önce makrofajlar, CD8+ sitotoksik T lenfositleri, daha sonra CD4+ helper T lenfositleri, natural killer (NK) hücreleri ve B lenfositleri tarafından infiltre edilir ve destrüksiyona uğratılır. İnsülinitis, beta hücre destrüksiyonu ve diyabetin gelişimi için CD4+ ve CD8+ lenfositlere gereksinim vardır.

IL-1 gibi sitokinlerle, nitrik oksit sentetaz (NOS), hücre içinde nitrik oksit yapımını hızlandırır. NO, DNA bant kırılmalarına yol açarak hücre ölümüne ve apoptozise neden olur. Tip I DM'un ortaya çıkışı çeşitli evreler şeklinde gösterilebilir. Evre I, genetik yatkınlık evresidir. Evre II'de çevresel tetikleyici etmenler otoimmün olayı başlatır. Sonuçta hücrel immün yanıtla pankreasta enflamatuvar bir reaksiyon başlar (insülitis) ve beta hücre hasarı ortaya çıkar. Evre III'te beta hücre hasarının artışıyla metabolik bozukluk başlar. Evre IV'te oral glukoz tolerans testine yanıtlar bozulmuş, açlık glukozu yükselmiştir. Klinik diyabetin ortaya çıktığı aşama Evre V'tir, bu evrede beta hücre kütlesi veya işlevinin %80'i kaybolmuştur, ancak glukagona C-peptid yanıtlarıyla gösterildiği gibi beta hücre yedeği henüz tümüyle kaybolmamıştır. Evre VI, total diyabet dönemidir. Beta hücre kütlesi tamamen harap olmuştur ve uyarıya C-peptid yanıtı yoktur. Antikor titreleri azalmış ve sonunda kaybolmuştur (1).

2.1.5. FİZYOPATOLOJİ

Tip I DM, insülin eksikliğine bağlı metabolik değişikliklerin en belirgin geliştiği diyabet tipidir. İnsülin başlıca anabolik hormon olup, eksikliğinde glukojenoliz, lipoliz, proteoliz artar, hücrel glukoz alımı bozulur ve kan şekeri yükselir. Tablo

6'da insülinin metabolik etkileri gösterilmiştir. İnsülin karşıtı hormonların (glukagon, katekolaminler, büyüme hormonu ve kortizol) aktivasyonlarının artmasında ise katabolik olaylar hızlanır. Bu hormonların artışı insülin salgılanmasını daha da bozarak, etkisini antagonize ederek, glikojenoliz, glukoneogenez, lipoliz ve ketogenezi uyararak, buna karşılık glukoz utilizasyonu ve glukoz klirensini azaltarak metabolik bozukluğu ağırlaştırır (1-2).

Tablo 6 : İnsülinin Metabolik Etkileri

| | Yüksek plazma insülini (tokluk durumu) | Düşük plazma insülini (açlık durumu) |
|-----------------------|---|---|
| KARACİĞER | Glukozun hücrelere alımı ve kullanımı | Glukoz üretimi |
| | Glikojen sentezi | Glikojenoliz |
| | Lipogenez | Lipogenezin durdurulması |
| | Ketogenezin önlenmesi | Ketogenez |
| KAS | Glukozun hücre içine girişi | Glukoz alımının durdurulması |
| | Glukozun oksidasyonu | Serbest yağ asidi ve keton oksidasyonu |
| | Glikojen sentezi | Glikojenoliz |
| YAĞ DOKUSU | Protein sentezi | Proteolizis ve aminoasit serbestleşmesi |
| | Glukozun hücre içine girişi | Glukoz alımının durdurulması |
| | Lipit sentezi | Lipoliz ve serbet yağ asitlerinin açığa çıkması |
| | Trigliserit upteyki | Trigliserit alımının durdurulması |

Bu hormonal değişikliklerin sonucu olarak glikoliz ve glikojen sentezinin azalmasıyla birlikte, karaciğerde glikojenoliz ve glukoneogenezin artması hiperglisemi ile sonuçlanır. Kan glukoz düzeyinin maksimum tübüler reabsorbsiyon düzeyini (180 mg/dl) aşması ile glikozüri, osmotik diürez sonucu poliüri ve tuz

kayıpları oluşur. Ağır elektrolit bozukluğu ve dehidratasyon, susama hissi sonucu fazla su içme (polidipsi) ile kısmen kompanse edilebilir. Hasta yeterli sıvı ve elektrolit alamaz ise hipovolemi ve elektrolit eksikliği gelişir. Hipovolemide, glomerüler filtrasyon hızının düşmesi, glukoz ve elektrolit ekskresyonunun azalmasına neden olur, bu da organizmanın glukoz yükünün daha da artmasına yol açarak hiperozmolarite ve hücrel dehidratasyonla sonuçlanır. Hiperosmolalite sonucu bilinç değişiklikleri meydana gelmektedir. Vücutta total sodyum ve potasyum eksik olmasına karşın serum sodyum ve potasyumu normal veya yüksek bulunabilir. Lipoliz sonucu total lipid, kolesterol ve serbest yağ asitleri artar. Artan serbest yağ asitleri organizma tarafından kullanılmayınca keton cisimciklerine dönüşerek diyabetik keto-asidoz tablosuna yol açmaktadır (30-31).

2.1.6. KLİNİK BULGULAR

Çocuk diyabetinin klinik gidişi; akut başlangıç, remisyon (balayı), şiddetlenme ve total diyabet evreleri olarak belirlenir. Akut başlangıçta poliüri, polidipsi, polifaji ve kilo kaybı gibi klasik semptomlar görülür. Söz konusu semptomların süresi genellikle 1 aydan kısadır. Daha önceden tuvalet terbiyesi kazanmış çocukta enürezisin başlaması diyabetin ilk bulgusu olabilir (1,4,16). Sık rastlanan erken bulgular yorgunluk, halsizlik, huzursuzluk, küskünlük, letarji, ekstremitte krampları, karın ağrısı, kilo kaybı ve spontan hipoglisemidir. Yeterli diyet alımına karşın kilo kaybı olur. Bazen genç kızlarda monial vajinit ve piyojenik cilt enfeksiyonu ilk bulgu olabilir (1,16). Yeni tanı konmuş diyabetik çocukların bir çoğunda insülin tedavisine başladıktan günler ya da haftalar sonra insülin gereksiniminde azalma görülür. Balayı dönemi olarak adlandırılan bu dönem, insülin salgılanmasında kısmi iyileşmeye bağlı olarak metabolik bozukluğun geçici düzelmesidir. Hastalığın ortaya çıkışından sonra ilk bir kaç yıl içinde endojen insülin yapımının giderek kaybıyla klinik ve biyokimyasal bulgular şiddetlenir ve hasta total diyabet dönemine girer. Bu dönemde insülinin tek bir gün dahi uygulanmaması diyabetik hastayı hızla ketoasidoza götürebilir. Hastaların yaklaşık %25'i ketoasidoz tablosunda başvurur. Özellikle 5 yaşın altındaki çocuklarda klasik öykünün dışında daha çok olgu görülür. Erken bulguları kusma, poliüri ve dehidratasyondur. Ciddi olgularda Kussmaul solunumu ve ağızda aseton kokusu oluşur. Karın ağrısı sıktır.

Hiperosmolaritenin derecesine bağlı olarak beyin ödemisi ve koma görülebilir. Laboratuvar bulguları olarak, glukozüri, ketonüri, hiperglisemi, ketonemi ve metabolik asidoz görülür (1-2,6,16-17).

2.1.6.1. Tip Diyabetin Klinik Dönemleri

2.1.6.1.1. Preklinik Dönem : Çevresel faktörlerin, genetik olarak yatkın bireylerde, beta hücrelerine karşı otoimmün aktivasyonu tetiklemesinden, klinik semptomlar ortaya çıkıncaya kadar geçen süredir. Bu dönem asemptomatiktir (32). Preklinik dönem üçe ayrılır. Erken preklinik dönem, genetik riski yüksek kişilerde, adacık antijenlerine yönelik humoral otoimmünite işaretlerini (ICA, IAA, anti-GAD vb.) gösteren, ancak erken faz insülin salgısının bozulmamış olduğu dönemdir. Preklinik dönem, genetik riski yüksek kişilerde, humoral otoimmünite işaretlerinin yanında erken faz insülin salgısının kısmen bozulduğu dönemdir. İleri preklinik dönem ise, genetik riski yüksek kişilerde humoral otoimmünite işaretlerinin yanında erken faz insülin salgısının ileri derecede bozulmuş olduğu dönem olarak tanımlanır. Bu dönemde en önemli belirteç, adacık otoantikörlerinin varlığıdır. Adacık antikörleri hastalık manifest hale geçtikten sonra 3 yıl içinde azalmaktadır (33).

2.1.6.1.2. Erken Klinik Dönem : Klinik semptomların, hipergliseminin (açlık plazma glukozu >140 mg/dl) ve immün belirteçlerin ortaya çıkışından itibaren, beta hücre rezervinin tamamına yakın bölümünün tükenmesine (inisiyal ve stimüle C-peptid düzeylerinin 0,1 ng/ml'nin altına inmesi) kadar geçen süredir (34).

2.1.6.1.3. Klinik Dönem : Klinik semptomların tam olarak yerleştiği ve beta hücre rezervinin çok düşük olduğu dönemdir (C-peptid < 0,1 ng/ml). Bu dönemde otoantikör titreleri azalmış, hiperglisemiye bağlı glikozillenme ürünleri (Hb A1C, Fruktozamin) artmıştır. Hastalar mutlak eksojen insülin gereksinimi gösterirler. Bu dönemde ketoasidoz gibi akut komplikasyonlara daha sık rastlanır.

2.1.6.1.4. İleri Klinik Dönem : Endojen C-peptid düzeyinin ileri derecede azaldığı ve kronik komplikasyonların ortaya çıktığı dönemdir. Bu dönemde otoimmünite azalmıştır.

2.1.7. TANI

Klinik bulguların yanı sıra, hiperglisemi (rastgele alınan kan örneğinde glukoz >200mg/dl), glukozüri, ketonüri saptanması tanıya götürür ve çoğu kez oral glukoz tolerans testi (OGTT) tanı için gerekli değildir. OGTT açlık kan şekeri bariz olarak artmamış ancak normal değerlerin üst sınırında bulunan asemptomatik çocuklarda gerekli olur. Poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı, bazen iştahsızlık, halsizlik, dehidratasyon, bilinç değişiklikleri ve koma gibi semptom ve bulgular tanıyı düşündürür. Diabetes Mellitus'un 1979 yılında National Diabetes Data Group tarafından belirlenen ve uluslararası kabul edilen tanı kriterleri Tablo 7'de özetlenmiştir.

Tablo 7 : Çocuklarda Diabetes Mellitus'un tanı kriterleri (4)

| | Açlık kan şekeri | OGTT 'de 2.saatte alınan kan şekeri |
|---|------------------|-------------------------------------|
| Normal | | |
| Venöz plazma | < 130mg/ dl | < 140mg/ dl |
| Venöz tam kan | < 115mg/ dl | < 120mg/ dl |
| Kapiller tam kan | < 115mg/ dl | < 140mg/ dl |
| Bozulmuş glukoz toleransı | | |
| Venöz plazma | < 140mg/ dl | 140-200mg/ dl |
| Venöz tam kan | < 120mg/ dl | 120-180mg/ dl |
| Kapiller tam kan | < 120mg/ dl | 140-200mg/ dl |
| Diabetes Mellitus | | |
| A. Poliüri, polidipsi, hızlı kilo verme gibi klasik semptomlarla beraber, rastgele alınan plazma glukozunun 200mg/dl'nin üzerine olması | | |
| B. Asemptomatik kişilerde açlık ve OGTT 'de glukoz konsantrasyonunun artışı | | |
| Venöz plazma | ≥140mg/ dl | ≥200mg/ dl |
| Venöz tam kan | ≥120mg/ dl | ≥180mg/ dl |
| Kapiller tam kan | ≥120mg/ dl | ≥200mg/ dl |

Diyabetin renal túbüler bozukluklarla seyreden renal glukozürilerden ve bir takım stres sonrası oluşan hiperglisemilerden, kusma, ishal ve yeterli besin alamamaktan dolayı oluşan ketosiz ve ketonüriden ayırıcı tanısı yapılmalıdır (16).

Tip I DM'lu hastalarda henüz hiperglisemi ile seyreden klinik dönem gelişmeden beta hücresindeki otoimmün yıkımın göstergesi olan otoantikörlerin saptanması [adacık antikor (Islet Cell Antibodies=ICA), insülin otoantikor (Insülin Antibodies=IAA), glutamik asit dekarboksilaz antikor (GADA)] ile prelinik dönemde tanı konabilmesi mümkündür. Ayrıca glikolize hemoglobin (HbA1C) tayini de tanıda yardımcıdır (2,4,9,21).

2.1.8. KOMPLİKASYONLAR

Tip 1 DM'un komplikasyonları (13);

1-Akut Komplikasyonlar

- Diyabetik ketoasidoz
- Beyin ödemi
- Serebral tromboz
- Hipoglisemi
- İnsülin allerjisi
- Enfeksiyonlara eğilim

2-Subakut komplikasyonlar

- Lipodistrofi
- Hiperlipidemi
- Pubertal gelişim ve menstrüasyon bozukluğu
- Büyüme ve gelişme geriliği
- Hepatomegali
- Smogy fenomeni
- Dawn fenomeni
- Diğer komplikasyonlar

3- Kronik komplikasyonlar

- Diyabetik retinopati
- Diyabetik nefropati
- Diyabetik nöropati

2.1.8.1. Akut Komplikasyonlar

Akut komplikasyonlar içinde en önemlileri diyabetik ketoasidoz ve hipoglisemidir.

Diyabetik ketoasidoz (DKA), mutlak veya rölatif insülin eksikliğine ilaveten stres hormonlarının (ACTH, kortizol, büyüme hormonu, epinefrin ve özellikle glukagon) artması sonucu ortaya çıkan, ketoasidoz, hipovolemi, dehidratasyon semptom ve bulguları ile kendini gösteren akut bir komplikasyondur. Diyabetik çocukların hastaneye yatışının en sık nedeni olmasının yanında, çocukluk çağında diyabete bağlı ölümlerinde başlıca nedenidir. Yapılan çalışmalarda 1 yılda, DKA nedeniyle hastaneye yatırma sıklığı %8.6 bulunurken ölüm oranı %1-2 düzeyine bulunmuştur (35). Daha önce insüline bağlı diyabet tanısı konulmuş olanlarda semptomların artması; bulantı, kusma, karın ağrısı, iştahsızlık, uyku hali ve koma, yeni tanı konulmuş olanlarda ise poliüri, polidipsi, noktüri, polifaji, kilo kaybı, halsizlik, bulantı, kusma, karın ağrısı, uyku hali ve komanın görülmesi DKA'ü düşündürür.

Fizik muayenede hızlı ve derin solunum (Kussmaul solunumu) nefesin aseton kokması, dehidratasyon, kuru sıcak ve kırmızı cilt, hızlı ve zayıf nabız, hipotansiyon, myotik pupiller, uyku hali ve koma görülür (2,13,35).

Klinik bulguların yanı sıra hiperglisemi (kan şekeri>300mg/dl), ketonemi, asidoz (pH<7,35), düşük bikarbonat düzeyi (<15mEq/L), glukozüri ve ketonüri varlığı diyabetik ketoasidoz tanısına götürür. Serum sodyum düzeyi genellikle normaldir, bununla birlikte hiponatremi veya hipernatremi de saptanabilir. Serum potasyum düzeyleri de düşük, normal veya yüksek bulunabilir, ancak tedaviyle düzeyin düşmesi beklendiğinden serum düzeyleri yakından izlenmelidir (1).

Diyabetik ketoasidoz sınıflandırması (36) :

- 1- Hafif DKA: arteryel kan pH 7.35- 7.25 arası veya venöz pH 7.30-7.20 arası
- 2- Orta DKA: arteryel kan pH 7.24- 7.15 arası veya venöz pH 7.19-7.10 arası
- 3- Ağır DKA: arteryel kan pH < 7.15 veya venöz pH < 7,10

DKA yakın bir izlem ve dinamik bir tedavi yaklaşımı gerektirir. Hasta komada ise solunum yolu açılır, gerekirse oksijen verilir ve nazogastrik tüp konularak dekompanse edilir, idrar sondası takılır.

DKA'da tedavi prensiplerini üç madde halinde özetleyebiliriz (2,13,17) :

- 1-Sıvı ve elektrolit tedavisi
- 2-İnsülin tedavisi
- 3-Bikarbonat tedavisi

Sıvı ve Elektrolit Tedavisi : Verilecek sıvı miktarı, hastanın defisiti ve idame ihtiyacını karşılamalıdır. Dehidratasyonun derecesine göre sıvı defisiti hesaplanır. Dehidratasyonun derecesi ise, hastanın daha önceki ağırlığı biliniyor ise buna göre, yoksa klinik bulgulara göre belirlenir.

Diyabetik ketoasidozda sıvı elektrolit tedavisinin süresi genellikle 36 saattir. Bunun yarısı ilk 12 saatte kalan yarısı ise 24 saatte verilmektedir. İlk 1-2 saatte 10-20ml/kg saat hesabından sıvı resusitasyonu yapılmaktadır (bu miktar ilk 8 saatlik toplamdan düşülür). Sıvının cinsi ilk 1-2 saat % 0.9 NaCl daha sonra ise % 0.45'lik NaCl + %2,5 Dekstroz (1 kısım %0,9 NaCl ile 1 kısım %5 dekstrozun karıştırılması ile elde edilir) olarak verilmektedir (1,36). Sıvı elektrolit tedavi uygulamalarında başka protokoller de uygulanmaktadır.

Hasta idrar çıkarmaya başladıktan sonra sıvıya K eklenmelidir. Serum K düzeyi 6 mEq/L 'den yüksek ise K eklenmez, ancak bu hastalarda insülin başlandıktan sonra K düzeyi mutlaka düşeceğinden K düzeyi sık olarak takip edilmeli ve yukarıdaki değerlere göre eklenmelidir. Ayrıca düzeltilmiş sodyum ve plazma ozmolalitesi hesaplanarak tedavide gerekli değişiklikler yapılmalıdır.

İnsülin tedavisi :Günümüzde en sık kullanılan kısa etkili insülin, kristalize insülin denilen regüler insülin dir. İntravenöz yoldan kullanılabilen insülin preparatı olması nedeni ile, gerek yeni tanı döneminde, gerekse daha önceden tanı almış hastaların izlemi sırasında ortaya çıkan hiperglisemi, ketozis, ketoasidoz tedavisinde regüler insülin kullanılmaktadır (2,13,17).

Bikarbonat tedavisi : Sıvı elektrolit ve insülin tedavisiyle kan bikarbonatı endojen olarak üretileceğinden kan pH'sı 7,1'e kadar düşmedikçe bikarbonat verilmez. Hastaya hızlı ve fazla miktarda bikarbonat verilmesi beyin ödemi ve beyinde paradoksal asidoz oluşturması, hemoglobin disosiyasyonunu bozarak doku hipoksisini artırması nedeniyle önerilmez (1-2,36).

DKA tedavisinin bir komplikasyonu olarak beyin ödemi görülebilir. Etyolojisi tam olarak bilinmemekle birlikte, beyinde idiyojenik osmollerin artışı nedeni ile kan beyin arasındaki osmotik dengenin bozulması sorumlu tutulmaktadır (37-38). Ağır dehidratasyon ve asidoz sonucu perfüzyon bozulması, hemokonsantrasyon ve koagülasyon bozuklukları, beyinde tromboz ve hemorajik infarktlara yol açabilir (39).

Akut hipoglisemi yaşamı tehdit eden en önemli metabolik komplikasyondur. Kan glukoz düzeyi 50 mg/dl'nin altındadır. Hafif hipoglisemilerde daha çok adrenerjik semptomlar (çarpıntı, terleme, açlık ve halsizlik hissi), ağır hipoglisemilerde ise bunlara ek olarak nöroglikopeni semptomları (baş dönmesi, konfüzyon, konvülsiyon, koma) görülür. Klinik hipogliseminin derecesine göre semptomlar Tablo 8'de verilmiştir. Hipogliseminin sebepleri arasında ağır egzersiz, yetersiz kalori alımı, ishal ya da fazla insülin alımı sayılabilir (2,21,36).

Tedavi nedene yöneliktir. Hafif veya orta derecede olan yakınmalar basit şekerlerin verilmesiyle düzeltilebilir. Ağır hipoglisemide özellikle hastanın bilinci kapalı ise intravenöz (IV) glukoz ve gerekirse glukagon verilebilir (40).

İnsülinlerin içinde bulunan protamin ve çinko gibi maddelere karşı insülin allerjileri görülebilir.

Kronik hiperglisemi sonucunda, hastaların immün sistemi baskılanmakta ve enfeksiyonlara eğilim artmaktadır. Enfeksiyonlara karşı direnç azalmıştır. Özellikle idrar yolu ve cilt enfeksiyonlarına da sık rastlanmaktadır (1-2).

Tablo 8 : Klinik hipogliseminin derecesine göre semptomlar

| Hafif hipoglisemi | Orta hipoglisemi | Ağır hipoglisemi |
|-------------------|-----------------------|-----------------------|
| Terleme | Konsantrasyon güçlüğü | Şuur kaybı |
| Çarpıntı | Şuur bulanıklığı | Oryantasyon bozukluğu |
| Titreme | Bulanık görme | Uykudan uyanmamak |
| Dikkat dağınılığı | | |
| Baş dönmesi | | |
| Bulanık görme | | |

2.1.8.2. Subakut Komplikasyonlar

İnsülin enjeksiyonlarının aynı yere yapılması sonucu enjeksiyon sahalarında önce lipohipertrofi daha sonra lipoatrofi görülebilir. İnsülini dönüşümlü bölgelere yapmakla lipodistrofi önlenir (1-2).

Diyabette lipid metabolizması bozukluklarına sık rastlanır. İnsülin eksikliği sonucu lipoliz ve plazmada serbest yağ asitleri artar, hiperlipidemi görülebilir (41).

Glukoz kontrolü kötü olmadıkça pubertede büyümede yavaşlama olmamaktadır. Ancak metabolik kontrolü iyi olmayan kızlarda ise sekonder amenore gelişebilmektedir (42).

Büyüme geriliği diyabetin başlangıç yaşı ve süresi ile ilişkilidir. Hastalığın püberteden önce ortaya çıktığı vakalarda büyüme geriliği daha belirgin olmaktadır. Günümüzde iyi metabolik kontrol ile, büyüme ve puberte gecikmesi sık görülmemektedir (1,43-44).

Smogy Fenomeni, gece ve sabah erken saatlerde terleme, gece korkuları, baş ağrıları şeklinde ortaya çıkan hipoglisemi ve bunu izleyen hiperglisemi, glüközürü ve ketonüri epizotlarıdır. Bazen asemptomatik olabilir ve kan glukoz izlemiyle ortaya çıkabilir (1).

Dawn (Şafak) Fenomeni, öncesinde hipoglisemi olmadan gelişen sabah hiperglisemileridir. İnsülin kliresinde artış veya büyüme hormonu salgılanmasının geceleri artması sonucu ortaya çıkar. Tedavi, orta etkili insülinin akşamları verilen dozunun %10-15 oranında artırılması veya saatinin geciktirilmesi şeklindedir (1).

Eklem hareketlerinde kısıtlılık, osteopeni ve katarakt çocukluk yaşlarında görülebilen diğer komplikasyonlardır. Eklem hareket kısıtlılığı doku proteinlerinin glikozilasyonu sonucu ortaya çıkar ve diğer mikrovasküler komplikasyonlarla birlikte olabilir. Katarakt 19 yaşın altındaki diyabetlilerin en az %5'inde görülmektedir. Lenste aşırı sorbitol birikimi katarakttan sorumlu tutulmaktadır (1).

2.1.8.3. Kronik Komplikasyonlar

Makrovasküler hastalıklar, erişkin diyabetiklerin sık görülen sorunlarından. Retina ve böbreğin mikrovasküler hastalıkları, çocukluk yaşlarında da gelişebilen kronik komplikasyonlardır. Nöropati, mikrovasküler hastalıktan ziyade miyoinozitol metabolizmasındaki bozuklukla ilgilidir. Yoğun insülin tedavisi ile

mikrovasküler komplikasyonların ortaya çıkışında gecikme ve ilerlemesinde yavaşlama görülmüştür. IBDM'ta mikrovasküler komplikasyonlarda primer patoloji, bazal membran kalınlaşması olup, membran permeabilitesindeki değişiklik ve kan akımında bozulmada buna katkıda bulunur. Kapiller damarlardaki değişiklikler tüm vücut damarlarında olmakla birlikte en çok böbrek ve retina, bir miktarda sinir dokusunda meydana gelir (1,45).

İnsüline bağımlı diyabet hastalarında en sık görülen mikrovasküler komplikasyon retinopatidir. Diyabet başladıktan 10 yıl sonra vakaların % 20'sinde, 20 yıl sonra % 45-60'ında görülmektedir. Normal damarlarda perisit kaybı, bazal membran kalınlaşması ve endotel hücrelerde fonksiyon bozukluğu sonucu mikroanevrizmalar oluşur. Mikroanevrizmalar sonucu kapiller kapanma, hemoraji ve eksudalar ortaya çıkar, hipoksi oluşur ve sonuçta fibrozis görülür. IBDM'li hastaların % 5-10'unda ileri yıllarda körlük oluşmaktadır. Lazer fotokoagülasyonla erken tedavi körlük gelişim oranını azaltır. Diyabet tanısı konduğu zaman ve tanıdan 5 yıl sonra oftalmolojik inceleme yapılmalı ve yıllık aralarla tekrarlanmalıdır (1).

Nefropati, çocukluk döneminde başlayan IBDM vakalarında, 25 yıl sonra %40 oranında gelişmektedir ve Tip 1 diyabetli hastalarda en sık ölüm nedenidir (46). Diyabetik nefropati, persistan proteinüri, glomerül filtrasyon hızında azalma ve kan basıncında artış ile belirlenir. Persistan proteinüri, idrar protein atılımının test çubuklarıyla belirlenen 500 mg'ın üzerinde olmasıdır. Bu dönemden önceki sessiz dönemde albumin atılımı artmıştır, ancak bu durum rutinde kullanılan testlerle saptanamaz (mikroalbuminüri). Mikroalbuminüri, radyoimmünoassay veya diğer duyarlı yöntemlerle belirlenebilir. Tüm IBDM'li hastalarda her kontrolde kan basıncı ölçülmeli ve ilk yıldan sonra en az yılda 1 kez idrar mikroalbumin düzeyi değerlendirilmelidir (1).

Semptomatik diyabetik nöropati (periferik veya otonom) IBDM'li çocuk ve adolesanlarda sık görülmemektedir. Hiperglisemi ve buna bağlı oluşan metabolik değişikliklerin sinir sisteminin çeşitli kısımlarında neden olduğu yapı ve fonksiyon bozukluğu nöropatinin oluşumundaki temel mekanizmadır. İlk 4-5 yıldan sonra yıllık aralarla sinir iletim hızı değerlendirilmelidir (1,45).

2.2. İMMÜN SİSTEM

İnfeksiyon etkenlerine veya ürünlerine karşı organizmayı koruyan sistemdir. Lenfoid organlar ve immün cevapta görevli olan hücrelerin tümüne immün sistem denir. Kemik iliği, dalak, karaciğer, kapsüllü ve kapsülsüz lenf düğümleri ile bu organlarda bulunan lenfositler, tek çekirdekli veya polimorf fagositer hücreler, bağ dokusu histiositleri, seröz sıvı ve alveol makrofajları, sinir sistemi mikrogliaları, Langerhans ve Kupffer hücreleri retiküloendotelyal sistemi (RES) oluşturmaktadır. Yabancı bir antijen molekülü çeşitli engelleri aşarak her hangi bir yolla konak organizmaya girdiği zaman immün sistemle karşılaşmaktadır. İnfeksiyöz ajanlara karşı vücudun savunması deri, müköz membranlar, mukoza tabakaları, silialı epitel hücrelerini içeren fiziksel bariyerler ve değişik immün sistem komponentlerinin uyumlu koordinasyonu ile sağlanır. 4 ana sistem bu immün mekanizmayı oluşturur. Bu 4 ana sistem birbirleri ile devamlı ilişki içerisinde. Bu sistemler:

- 1-Hücresele immünite (T hücre bağımlı)
- 2-Hümorale immünite (B hücre bağımlı)
- 3-Fagositer sistem
- 4-Kompleman sistemidir.

İmmün sistem ayrıca malignensi ve otoimmün hastalıklara karşı da koruyucu görev yapar (47-48).

Hücresele immünite primer olarak T lenfositler ve makrofajlar aracılığı ile, hümorale immünite B lenfositler aracılığı ile, fagositer sistem polimorfonükleer hücreler, monositler ve makrofajlar aracılığı ile ve kompleman sistemi kompleman komponentleri ile sağlanmaktadır (48).

Lenfositler ve diğer lökositlerin hücre membranında bir takım farklı antijenik moleküller bulunmaktadır. Bunların bazıları doğal olarak, bazıları hücre farklılaşması veya aktivasyonundan kısa bir süre sonra görülmektedir. Bu moleküller antijen tanıyan özgül reseptörler veya antijenik göstergelerdir. Özgül monoklonal antikorlarla belirlenen bu moleküller, hücrelerin gruplandırılmalarında kullanılmaktadır. Hücre yüzey reseptörleri, 1989 yılında kararlaştırılmış olan, CD (cluster designation, clusters of differentiation; monoklonal antikor grupları) sistemiyle ifade edilmektedir (47).

2.2.1. HÜCRESEL İMMÜNİTE

2.2.1.1. T lenfositleri

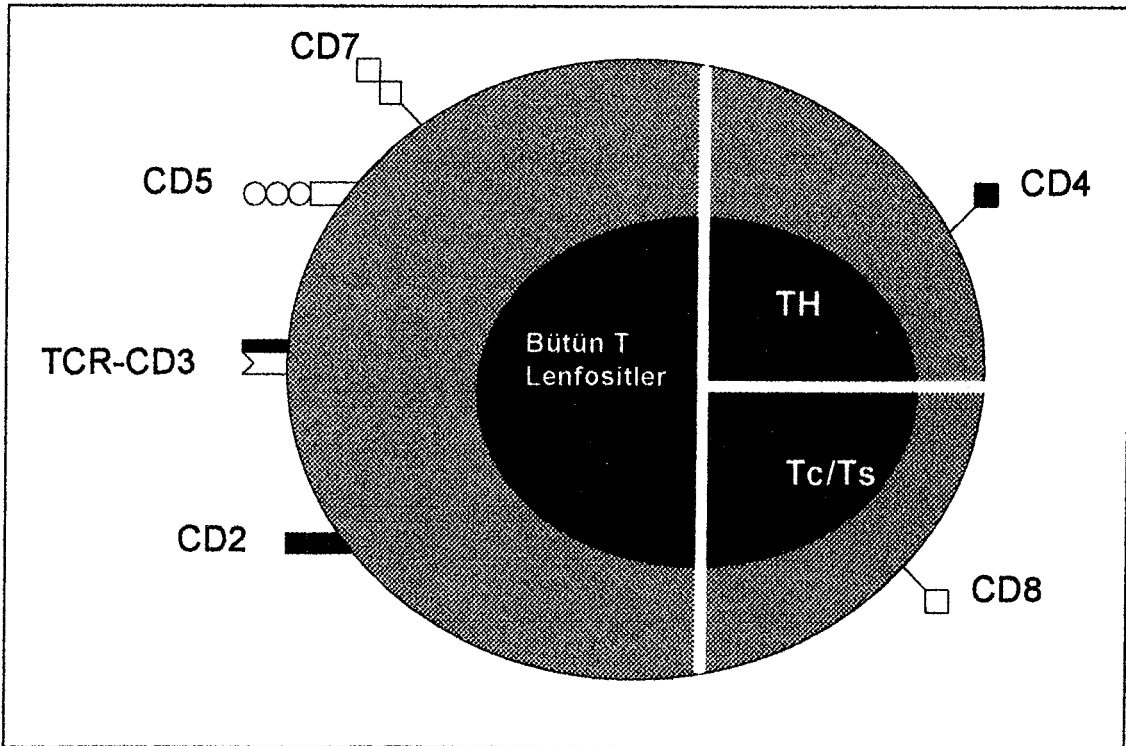
Kemik iliğinden timusa gelen immatür T hücrelerinin proliferasyonu ve farklılaşması timusta olmakta ve hücre yüzeyinde pek çok reseptör kazanmaktadır. Timusun kontrolünde olgunlaşarak ikincil lenfoid organlarda yerini alan T lenfositler, hücresel immün cevaptan sorumlu hücrelerdir. T hücrelerinin başlıca iki ana fonksiyonu vardır. Birincisi, B hücre yüzey moleküllerine bağlanabilen membran molekülleri ve sitokinler aracılığı ile B hücrelerinin antikor yapımını uyarmak. Diğeri ise, tümör hücreleri ve virüslerle enfekte hücreleri öldürmektir (47).

T lenfositlerin temel göstergesi, hücre membranında bulunan T hücre reseptörü (T cell receptor, TCR)'dür. T lenfositlerde TCR1 ve TCR2 olmak üzere iki tip TCR reseptörü bulunmaktadır. T lenfositleri, TCR olarak adlandırılan bu hücre yüzey proteinleri aracılığı ile yabancı hücrelerin varlığını saptarlar. TCR'ün görevi spesifik küçük moleküller bağlamak, yani antijeni tanımadır. T hücre reseptör proteinleri hiçbir zaman salgılanmazlar, bu özellikleri nedeniyle T hücreleri uzaktaki bir hedefi bulamazlar. Bunun yerine koruyucu etkilerini, hedefe direkt kontak veya diğere immün hücrelerin aktivitesini etkileyerek yaparlar. TCR1 ve TCR2 reseptörleri, CD3 kompleks reseptör molekülünün tamamlayıcısı olan polipeptidlerdir. T lenfositlerde bulunan CD3 polipeptidleri, antijen tanıyan reseptörlerdir. CD3 kompleksi, bütün T lenfositlerde bulunmaktadır. CD3 kompleksinin görevi, antijen uyarısını lenfositlere aktarmaktır (47-48).

2.2.1.2. T lenfosit subgrupları

T hücreleri timusta gelişirler (timosit). Kemik iliğinden gelen kök hücreleri, timus korteksine girerler ve gelişen hücreler medullaya doğru hareket ederken, timus hormonları (timozin, timolin ve timopietin) ile birlikte, timus stroması tarafından yönlendirilen bir seri farklılaşmaya uğrarlar. Bu farklılaşma sırasında hücreler, onları karakterize eden ve glikoprotein tabiatında bir takım yüzey antijenleri (yüzey belirteçleri) kazanırlar. Bunlar CD ile işaretlenirler (49). Bütün T hücrelerinde CD2, CD3 ve CD7 pozitifdir. CD2, CD3 ve CD7 T lenfositlerinin belirgin subgrupları vardır. Bu subgrupların her birinin çok değişik immünolojik fonksiyonları olup

kendilerine özgü belirleyici yüzey belirteçleri vardır. Bu subgruplar sıklıkla T hücre subsetleri diye adlandırılır. T lenfositlerinin iki önemli subsetleri CD4 ve CD8 diye bilinen ek yüzey proteinleriyle karakterizedir. Timus medullasından itibaren perifere geçmiş T hücrelerinde CD4 ve CD8 belirteçleri birlikte yer almazlar. Bununla beraber, total T hücrelerinin %4 kadarının CD4 ve CD8 işaretlerini taşımadıkları, %1 kadarının da CD4 ve CD8 işaretlerini birlikte taşıdıkları gösterilmiştir. Olgun fonksiyonel T lenfositleri her zaman bu iki proteinin sadece bir tanesine sahiptir. Bu, hücre fonksiyonları arasındaki fark açısından çok önemlidir. T lenfositleri CD8 yüzey antijenine sahipse sitotoksik ya da supressör aktivitededir. Bu hücreler yabancı makromolekülleri öldürme yeteneğine sahiptirler. CD4 proteini taşıyan diğer T lenfositler ise T Helper olarak bilinirler. Bunun yanı sıra bir kısım CD8 hücreleri helper aktivitesi gösterirken, bazı CD4 hücrelerinin de sitotoksik aktivite gösterebildikleri bilinmektedir. İnsan T lenfositlerinde bulunan majör reseptörler Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1: İnsan T lenfositlerinde bulunan majör reseptörler (47)

Helper T lenfositler: T Helper lenfositleri kandaki lenfositlerin %35 –64 kadarını oluşturur. Görevi ise timusa bağımlı antijenlerin uyarımı karşısında B lenfositlerine yardım ederek, onların plazma hücrelerine dönüşmesini ve immün cevap ürünü olan antikör sentezlemelerini sağlamak, sitotoksik T lenfositleri ile baskılayıcı T lenfositleri uyarmaktır (49). T Helper lenfositlerin hücre membranında CD4 reseptörü bulunur. Antijen sunucu hücrelerin MHC sınıf II kontrolündeki moleküller ile T Helper lenfositlerin CD4 reseptörleri arasında bağlantı kurulmaktadır. Makrofajlar ve diğer antijen sunucu hücreler, bu reseptörler aracılığı ile antijen moleküllerini T Helper lenfositlerine sunmaktadırlar (47). Helper T lenfositleri TH0, TH1, TH2 olarak üç guruba ayrılırlar. TH1 lenfositler tarafından salgılanan lenfokinler, hücrel immünitenin devam etmesini, B lenfositlerden IgG2 ve IgM sentezini ve makrofajların aktivasyonunu ve böylece makrofajların fagositoz ve mikrop öldürme yeteneklerini güçlendirerek enfeksiyona karşı savunmayı güçlendirmeyi sağlar. TH2 kaynaklı lenfokinler ise IgG1 ve IgE sentezini uyarırlar ve lokal ve/veya dolaşımdaki eozinofillerin miktarını artırılırlar. Akut ve kronik inflamasyonu ve geç tip hipersensitiviteyi inhibe ederler (49).

Supresör T lenfositler: Kandaki lenfositlerin %20-30 kadarını oluşturur. İmmün cevap esnasında B ve T lenfositlerinin üzerinde baskılayıcı etki göstererek immün cevap mekanizmasını düzenleyen hücrelerdir. Çoğunlukla kemik iliğinde bulunmaktadır. B lenfositlerin olgunlaşmasını frenlerler. Membranında CD8 reseptörleri bulunmaktadır (47).

Sitotoksik T lenfositler: Sitotoksik lenfositler, direkt olarak kendileri veya salgıladıkları lenfokinler aracılığı ile hücrel immün cevapta etkili lenfositlerdir. Vücut savunmasında doğrudan yer alan tek lenfosit çeşitidir. Virus, parazit ve bakteri ile enfekte hücreler, tümör hücreleri, doku ve organ transplant hücreleri gibi, organizmaya zararlı veya yabancı hücrelere doğrudan saldırırlar. Hücre membranında CD8 reseptörleri taşırlar. Sitotoksik hücreler, hedef hücrelere, yüzeylerindeki spesifik reseptör moleküller aracılığı ile bağlanırlar ve hücrelerin membran bütünlüğünü bozup hücreyi lizise uğratarak öldürürler (47-49).

Killer (K) ve Natural Killer (NK) lenfositler: İnsan lenfoid hücreleri arasında yabancı hücrelere karşı sitotoksik etki gösteren, sitotoksik T lenfositlerinden farklı K ve NK hücreleri de vardır. Killer hücreleri yüzeylerindeki antijenlere karşı

oluşmuş kendi antikorlarıyla kaplanmış hedef hücrelerini eritirler. Antikora bağımlıdır.

Natural Killer hücreleri ise neoplastik hücreleri yok etmekle görevlidirler. Tümör hücrelerinden başka, virüsle infekte hücreler ve IgG1 veya IgG3 antikorlarıyla kaplı hedef hücreler üzerinde öldürücü etkisi vardır. NK hücreleri, immün cevapta önemli olan interferon gamma (INF- γ) ve tümör nekroz faktörü (TNF) gibi diğer bazı sitokinler salgılamaktadır (47).

2.2.1.3. Apoptozis (CD95 – Fas/ APO-1)

Vertebralı hücrelerinde ölüm başlıca iki yoldan olur; nekrozis ve apoptozis. Nekrozis, hücrelerde iskemi, yüksek ısıya maruz kalma gibi, biyolojik, fizik veya kimyasal etkilerle ortaya çıkan hücre ölümüdür. Bu hücre ölümünü çoğu defa inflamatuvar bir cevap izler. Buna karşılık, apoptozis (sonbaharda ağaç yapraklarının dökülmesi anlamına gelen Yunanca bir sözcük) programlı (fizyolojik) hücre ölümü olup genetik olarak kontrol edilir. Çeşitli fizyolojik ve farmakolojik uyarılar ile başlatılır. Apoptozis, immün sistemin işleminde ve gelişmesinde önemli rol oynar (49).

Apoptozis hücre hacminin küçülmesiyle başlar, hücre büzülür, sitoplazmik membranda küçük balonlaşmalar olur, nükleus yoğunlaşarak membrana yarım ay biçiminde çöker, sonra kırıntılar halinde parçalanır ve hücre apoptotik cisimcikler halinde küçük parçalara ayrılır. Bu parçalar fagositik hücreler tarafından sindirim yoluyla ortadan kaldırılır. Apoptotik süreç oldukça hızlıdır (birkaç dakika ile birkaç saat arası). Apoptozisi indükleyen sinyaller; Fas (Apo-1/ CD95) sistemi, protein tirozin kinazlar, Ras sinyal yolu, protein kinaz C, kalsiyum sinyal yolları, seramid, CAMP ve serbest radikallerdir (50-51). Apoptozis, Fas reseptörü (CD95/Apo-1) ve Fas ligandı (Fas L) gibi hücre yüzey molekülleriyle ilgilidir.

Fas reseptörü (CD95/Apo-1), 48 kDA ağırlığında, tümör nekrozis faktör (TNF) reseptör ailesine mensup bir proteindir. Doku homeostazisi ve immün yanıtın kontrolünden sorumlu olup, lenfositler, hepatositler, endotel hücreleri ve epitel hücreleri yüzeyinde mevcuttur (50). Fas geni insanlarda 10. kromozom uzun kolunda lokalize olmuştur.

Fas Ligand (Fas L), TNF reseptör ailesine mensup, 40 kDA ağırlığında tip II trans-membran proteinidir. Aktive timositler ve splenositlerde eksprese edilir. İnsanlarda 1. kromozomda lokalize olmuştur (50). Apoptozis ayrıca Fas reseptörü eksprese eden aktive otoreaktif T hücrelerinin eliminasyonunda önemli bir rol oynar (50). Antijen sunan hücre tarafından stimüle edilen aktive sitotoksik T lenfositlerinde Fas L eksprese olur. Sitotoksik T lenfositlerin yakın çevresinde lokalize olan Fas+ beta hücreleri ile interaksiyona giren Fas L, beta hücrelerinin yok edilmesini sağlar. Bu saldırıdan alfa ve delta adacıklar Fas - oldukları için kurtulmaktadır.

Apoptotik hücre ölümü, interlökin-1 β konverting enzim (ICE) gibi çeşitli enzimatik proteinlerin indüklenmesi yoluyla kontrol edilebilir. ICE, yeni sınıf sistein proteazlarının bir üyesi olup, memelilerde hücre ölümünü indükleyebilir. Bu proteazların aşırı üretimi apoptozis ile sonuçlanır (50). Ayrıca apoptozis, bcl-2 gibi bazı yüzey moleküllerinin aşırı ekspresyonu ile inhibe edilebilir ve hücrelerin ömürleri uzatılabilir. Apoptozis normalde organizmada düzenli işleyen bir fizyolojik olaydır, ancak patolojik olarak da indüklenebilir. Örnek olarak olgunlaşmamış timositler, glikokortikoidler ve irradiasyon gibi çeşitli indüktif stimuluslara apoptozisle cevap verirler.

Apoptozisin disregülasyonu, IBDM, Multipl Skleroz ve Hashimoto troiditi gibi bazı otoimmün hastalıkların gelişimini kolaylaştırabilir. Apoptozisin regülasyonunda, IBDM'lu hastaların T hücrelerinde, Fas reseptör ekspresyonunun azalmış olması anahtar rol oynar. Fas reseptör ekspresyonunun azalması, apoptozisi engeller ve insülin üreten beta hücrelerine karşı direk etkili otoreaktif T hücrelerinin hayatta kalmasına neden olur. Ayrıca, IBDM'ta pankreatik beta hücrelerine tolerans kaybolur ve immünolojik efektör mekanizmalar bu hücre tipine yönelir. Eğer T hücre reseptörleri, timik antijen sunan hücreler tarafından sunulan self antijenlere yüksek afinite ile bağlanırsa, hücre apoptozisle elimine edilir (51). Fas/Fas L etkileşimi önceden TCR/CD3 kompleksi yoluyla aktive olmuş T hücrelerinin apoptozisini indükler. Fas'ın invitro IL-1 β uyarısından sonra pankreatik beta hücreleri tarafından eksprese edildiği gösterilmiştir. IL-1 β , IBDM'taki otoimmün hasarda rol oynadığı bilinen bir proteindir. IBDM'ta β hücrelerinin lizisine IL-1 β ve NO üretimi yoluyla aktive makrofajlar aracılık edebilir. Bu mekanizma

otoimmün prosesin başlamasından ve gelişmesinden sorumludur. Fizyolojik dozlarda $1L-1\beta$ ve NO, beta hücre destrüksiyonundan sorumludur (50,52).

2.2.1.4. CD45RA (Naive) ve CD45RO (Memory) T lenfositleri

Membran antijenleri arasında, resiprokal insan T hücre alt gurupları tarafından farklı olarak eksprese edilen, yaygın lökosit antijen ailesinin izoformları olan CD45RA ve CD45RO yer alırlar. Bunlar sırasıyla, naive (işlem görmemiş) ve memory (hafıza) hücreler olarak adlandırılırlar (53).

CD45RA antijeni, T kökenli hücreler tarafından eksprese edilir. CD4+CD45RA+ ve CD4+CD45RO+ hücrelerinin fonksiyonel analiz sonuçları bize, bellek mekanizmasını devreye sokan antijenlere karşı proliferatif cevapların veya antikor üretimi için yardım sağlama yeteneğinin sadece CD4+CD45RA-RO hücreler tarafından gerçekleştirildiğini göstermiştir. CD4+CD45RA hücreler için tanımlanan başlıca immünoregülatör fonksiyonlar, direkt olarak veya CD8+ hücreler tarafından supresör aktivitenin indüksiyonu yolu ile immün cevapların baskılanmasını kapsar. Farklı klinik durumlarda, CD45RA ve CD45RO T hücrelerinin sıklığının değiştiği gözlenmiştir. Özellikle immün fonksiyon bozuklukları gösteren hastalıklarda açıkça gözlenir. Örnek olarak, multipl skleroz (MS) hastalarının özellikle akut alevlenmeleri sırasında, dolaşımdaki CD4+CD45RA+ lenfositlerinde azalma görülmektedir. Aynı durum romatoid artrit (RA), sistemik lupus eritemozus (SLE) ve böbrek hastalıklarında da görülmektedir (53).

CD45 lökosit antijen ailesi, lenfoid ve myeloid orijinli hücrelerde eksprese edilen membran glikoproteinleri ile ilişkilidir. Molekül ağırlığı 180 kDa'dan 220 kDa'a kadar değişebilen en az dört izoformu tanımlanmıştır (54). CD45 izoformlarının fizyolojik rolleri, henüz tam olarak aydınlatılamamasına rağmen, lenfosit aktivasyonunda görev yapan transmembran sinyallerinin düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (55).

2.2.2. HÜMORAL İMMÜNİTE

B lenfositler, humoral immün cevaptan sorumlu temel hücrelerdir. Periferik kan lenfositlerinin %15 – 20'sini oluştururlar. Temel fonksiyonları kan ve diğer

vücut sıvılarına antikor salgılayarak bu bölgelerde yabancı ajanların yaşamalarını engellemektir.

B lenfositlerin diğer lenfositlerden en önemli farklı özelliği, membranlarında immünglobulin reseptörleri (surface Ig receptor, sIg) taşımalarıdır. Bir antijen tarafından uyarılan B lenfositler, hızla çoğalarak immünglobulin sentez ve sekrete edebilen plazma hücrelerine dönüşürler. Ayrıca yabancı antijenlerin T lenfositlerince tanınmasını sağlarlar (47).

2.2.2.1. İmmünglobulinler

İmmün sistem tarafından antijenler veya immünojenlere karşı oluşturulan ve antijenik epitoplara ile özgül olarak reaksiyona giren gammaglobulin yapısındaki moleküllere immünglobulin (Ig) veya antikor (antibody, Ab) adı verilmektedir. İnsanda immünglobulinler ; IgG, IgA, IgM, IgD, IgE olmak üzere beş sınıftır.

Normal insan serumunda bulunan antikorların %80'i IgG'dir. Plasentadan geçebilen tek immünglobulindir. Dört subgrubu vardır; IgG1, IgG2, IgG3, IgG4. IgG sınıfı antikorlar, özellikle presipitasyon, toksin ve virus nötralizasyonu, kompleman birleşmesi, trombosit agregasyonu ve opsonin reaksiyonlarında etkilidir (56-57).

Serumda bulunan immünglobulinlerin % 15'i IgA'dır. Mukoza altı lenf düğümlerinde, lamina propriadaki plazma hücreleri tarafından sentezlenmektedir. IgA1 ve IgA2 olmak üzere iki alt sınıfı vardır. Üst solunum yolları ve barsak mukozası enfeksiyonlarında, yüzeysel immünitede salgısal Ig A etkili antikorlardır.

İmmünglobulin M, total immünglobulinlerin %10 kadarını oluştururlar. IgM fütusta ilk yapılan, birincil immün yanıtta ilk oluşan antikordur.

IgD, total imünglobulinlerin %0.2'sini oluştururlar. Hücre yüzeylerinde IgM ile birlikte bulunurlar. IgD antijen ile birleşince, hücre içine uyarı iletir, böylece antijene karşı IgM sentezini artırır (57).

Total immünglobulinlerin %0.004 kadarı IgE'dir. Reaginik etkinlik gösterdikleri için bu antikora reaginik antikorlarda denilmektedir. Helmint enfeksiyonlarında ve atopik allerji olgularında miktar olarak artan immünglobulinlerdir. IgE sınıfı antikorlar, mast hücrelerindeki Fc reseptörlerine bağlandıktan sonra Fab kısmıyla da allerjenlere bağlanarak mast hücrelerinden farmakolojik etkin mediatörlerin salınımına neden olmaktadır (57).

2.3. SİTOKİNLERİN GENEL ÖZELLİKLERİ

Sitokinler, immün sistem hücreleri arasında etkileşimi sağlayan ve bu hücreler tarafından salgılanan düşük molekül ağırlıklı, protein ya da glikoprotein yapısındaki maddelerdir. Bu düşük molekül ağırlıklı salgılanan proteinler, genellikle 15 –25 kDa ağırlığında olup, hücre büyümesi, inflamasyon, immünite, farklılaşma ve onarım olaylarını düzenlerler.

Etkileri geçici ve kısa sürelidir. Monosit ve makrofajlar tarafından salınan sitokine monokin, lenfositler tarafından salınan sitokine lenfokin, lökositlere etki eden monokin ve lenfokine ise interlökin (IL) denilmektedir. Hedef hücrelerin yüzeyindeki (ya da çözünmüş haldeki) kendileri için özgül reseptörlere bağlanırlar. Sitokinler düşük konsantrasyonlarda güçlü etki gösterirler. Protein sentezi ve RNA yapısında değişiklikler oluşturmak için, düşük miktarlarda hücre yüzey reseptörlerine yüksek affinite ile bağlanırlar. Artan bir düşünceye göre, bazı sitokinler, IL-1 ve TNF gibi, uyarıcı etkilerini çözünür hale geçmeden membran formunda gösterebilir. Ortamda yabancı madde bulunması durumunda geçici olarak üretilirler ve immüno-inflamatuar yanıtların genişliğini ve etki süresini düzenlerler. Endokrin hormonların aksine, lokal olarak parakrin veya direk otokrin etki gösterirler. Bu lenfoid sitokinler dolaşımda çok az miktarlarda bulunurlar. Sıklıkla konaktaki zararlanmaya bağlı olarak, bakteriyel ürünlerin uyarısıyla non-lenfoid hücreler sitokinleri salgırlar ve kan akımında saptanabilirler. Yapısal olarak birbirinden farklı yüzden fazla sitokin tanımlanmıştır (58-59).

Sitokinler genel olarak birbiriyle ilişkili 5 doğrultuda etki gösterirler:

- 1) Lenfoid hücrelerin çoğalma ve farklılaşmasını sağlamak
- 2) İmmün cevabı şiddetlendirmek veya baskılamak suretiyle regüle etmek
- 3) İnflamasyon olaylarına katılan hücreleri aktive etmek, reaksiyon yerine toplayarak orada tutmak, çeşitli biyolojik etkinlikler göstermek (efektör etki)
- 4) Kemik iliğine etki ederek hemopoyetik regülasyona katılmak
- 5) Bazı hipofiz hormonlarının ve diğer biyolojik maddelerin sentez ve salınmalarına neden olmak.

2.3.1. İNTERLÖKİN – I (IL-1)

İnterlökin-1, mononükleer fagositlerden türevlendiği tanımlanan ilk polipeptiddir. Endojen pirojen veya lenfosit aktivasyon faktörü ile B lenfosit aktivasyon faktörü olarak da bilinir. En çok makrofajlar tarafından salınmakla birlikte, endotel hücreleri, fibroblastlar, astrositler, B ve T lenfositleri tarafından da yapılmaktadır. İmmünolojik reaksiyonların ve inflamasyonun başlaması için önemli olan IL -1'in, iki majör polipeptid türünün bulunduğu gösterilmiştir. Her biri yaklaşık 17 kDa molekül ağırlığında olan ve interlökin-1 α (IL-1 α) ve interlökin-1 β (IL-1 β) olarak bilinen bu iki formun, iki farklı genin ürünleri olduğu açıklanmıştır. Her iki türde aynı hücre yüzey reseptörüne bağlanırlar ve biyolojik aktiviteleri de eşittir. IL-1'in en önemli görevi T lenfosit aktivasyonunu sağlamaktır. T hücrelerinin kostimülatörü olduğu bilinmektedir. Başlıca fonksiyonunun, tümör nekrosis faktöre (TNF) benzer şekilde doğal immünitede, konak inflamatuvar cevabının mediatörü gibi iş gördüğü açıklanmıştır.

T lenfositlerden salınan IL-1 ve IL-2 ile makrofajlar tekrar aktive olarak MHC sınıf II molekülleri ile bağlanmakta veya makrofajları uyaran TNF, CSF, INF- γ gibi lenfokinlerin salınımına neden olmaktadır. IL-1, monositler için bir kemotaktik faktördür. IL-1 ; TH lenfositlerine etki ederek onların IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, INF- γ ve CSF salgılamasını, B lenfosit proliferasyonunu ve farklılaşmasını, NK hücrelerini aktive ederek onların sitosidal aktivitesini, polimorfonükleer fagositlerin kemotaksisini sağlamaktadır. TNF ile birlikte inflamasyonda görev almakta, bağ dokusunu, nöroendokrin sistemi etkilemektedir. Bazı inflamatuvar hastalıklarda, inflamasyondan dolayı serum seviyeleri yükselir. Hipotalamusta prostoglandin aracılı ateş oluşumunu uyarmaktadır (58-59).

MATERYAL VE METOD

Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Kliniği'nde takip edilen, yaşları 2,5 ile 17 arasında değişen 40 Tip I Diabetes Mellitus'lu çocuk ve adolesan çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan hastalar, yeni tanı konmuş grup ve uzun dönemdir takip edilen grup olarak ayrıldı. Diyabet süresi 6 aydan kısa olan ve tanısı Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Kliniği'nde konmuş, yaşları 2,5 ile 15 arasında değişen 12 yeni tanı konmuş Tip I diyabetik çocuk ve adolesan, yeni tanı grubunu oluşturdu. Uzun dönem grubu ise, diyabet süresi bir yıldan fazla olan yaşları 3 ile 17 arasında değişen 28 Tip I diyabetik çocuk ve adolesan tarafından oluşturuldu. Otoimmün bir hastalığı olmayan non-diyabetik, yaşları 3-16 arasında değişen 22 sağlıklı çocuk ve adolesan, kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Yeni tanı diyabetik çocukların, 7'si erkek 5'i kız, uzun dönem diyabetik hastaların ise 10'u erkek 18'i kız idi. Kontrol grubu çocukların 10'u erkek, 12'si kız idi. Hasta ve kontrol grupları seçilirken yaş ve cinsiyet açısından benzer olmalarına dikkat edildi.

Hastaların diyabet süreleri 1 ay ile 13 yıl arasında değişmekteydi. Tip I diyabetik hastalarda tanı WHO kriterlerine göre kondu. Hasta grubunu oluşturan tüm çocuk ve adolesanlar sabah ve akşam olmak üzere günde iki kez subkutan miks insülin kullanmaktaydı. Hasta grubunda başka bir otoimmün hastalık saptanmadı.

Kontrol grubu ise, non-diyabetik, immün sistem mekanizmalarını etkileyecek başka bir otoimmün hastalığı olmayan, fizik muayene ve laboratuvar bulguları normal olan 22 sağlam çocuk ve adolesan tarafından oluşturuldu.

T lenfosit subgrupları ve Apoptozis tayini

T lenfosit subgrupları tayini için hastalardan 2 ml. EDTA'lı tüpe kan alındı. Bu kandan 100 µl alındı ve bu kan 15 µl monoklonal antikor ile muamele edildi. 30

10 dakika inkübasyonda bekletildikten sonra lysing solüsyonu ile karıştırıldı ve 10 dakika karanlıkta tekrar inkübasyona bırakıldı. Ardından 1200 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üzerindeki süpernatant dökülen materyal, PBS (Fosfat Buffer Solusyonu) ile muamele edilip tekrar 1200 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası üzerindeki süpernatant dökülen materyal çalışmaya hazır hale getirildi.

T lenfosit subgrupları ve apoptozis tayini için FACSort Flowcytometry (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, USA) cihazı kullanıldı. Lenfosit subgrupları için CD3 PE, CD4 PE, CD8 FITC, naive (olgunlaşmamış) lenfositler için CD45RA FITC, memory (hafıza) lenfositler için CD45RO FITC, apoptozis için CD95 PE (Fas/Apo-1) ve kontrol olarak IgG1 – IgG2a monoklonol antikor olarak kullanıldı.

İnterlökin -1 β tayini

İntrasitoplazmik IL-1 β tayini için hastalardan 1 ml. EDTA'lı tüpe kan alındı. Alınan kan polystren tüpe konup, üzerine 10 μ g BFA (brefeldin A) (Sigma kat. no. B7651) ve 1 μ g LPS (lipopolisakkarit) (Sigma kat. no. L2654) eklenerek 4 saat 37 C'de aktivasyona bırakıldı. 50 μ l aktive tam kan tüpe kondu. Üzerine CD14FITC monoklonal antikor konup 30 dakika oda ısısında ve karanlıkta bekletildi. 2 ml FACS lysing solusyonu eklenip 10 dakika oda ısısında bekletildi. 1200 devirde 5 dakika santrifüj edilip, süpernatant atıldı. 500 μ l FACS permabilizing solusyonu eklenip, 10 dakika oda ısısında bekletildi. 2 ml PBS (Fosfat Buffer Solusyonu) eklenip, 1200 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. 15 μ l intraselüler IL-1 β PE monoklonal antikor konup, 30 dakika oda ısısında bekletildi. 2 ml PBS eklenip, 1200 devirde 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. 500 μ l %1'lik paraformaldehit eklenen materyal çalışmaya hazır hale getirildi.

İntrasitoplazmik IL-1 β tayini için FACSort Flowcytometry (Becton Dickinson Immunocytometry Systems, USA) cihazı kullanıldı.

İstatistiksel Analiz

Çalışılan parametrelerin değerlendirilmesinde SPSS For Windows 8.0 (Microsoft, USA) istatistik programı kullanıldı. Kruskal Wallis, one way ANOVA ve alt testlerde de ki-kare testi kullanılarak gruplar karşılaştırıldı.

BULGULAR

Çalışmaya Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda, tanısı WHO kriterlerine göre konmuş, yaşları 2.5 ile 15 arasında değişen 12 yeni tanı konmuş Tip I diyabetik çocuk ve adolesan ile, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği'nce takip edilen, diyabet süreleri 1 yıldan uzun olan yaşları 3 ile 17 arasında değişen 28 Tip I diyabetik çocuk ve adolesan dahil edildi. Yaşları 3 ile 16 arasında değişen 22 sağlam çocuk ve adolesan kontrol grubu olarak çalışmaya alındı. Yeni tanı konmuş 12 hastanın 7'si erkek 5'i kız, uzun dönem diyabetik 28 hastanın ise 10'u erkek 12'si kız idi. Yeni tanı konmuş diyabetik hastaların yaş ortalaması 8.3 ± 4.1 yıl, uzun dönem diyabetik hastaların yaş ortalaması ise 11.0 ± 4.3 yıl olarak tespit edildi. Kontrol grubunun yaş ortalaması ise 9.4 ± 3.8 yıl olarak tespit edildi. Hasta grupları ile kontrol grubunun ortalama yaşları arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p>0.05$). Tablo 9'da kontrol ve çalışma gruplarının genel değerlendirilmesi görülmektedir.

Tablo 9 : Kontrol ve Çalışma gruplarının genel değerlendirilmesi

| Gruplar | Birey Sayısı | Cinsiyet (E/K) | Yaş Ortalaması (Yıl) |
|------------------|--------------|----------------|----------------------|
| Yeni Tanı Grubu | 12 | 7/5 | 8.3 ± 4.1 |
| Uzun Dönem Grubu | 28 | 10/18 | 11.0 ± 4.3 |
| Kontrol Grubu | 22 | 10/12 | 9.4 ± 3.8 |

Çalışmamızda, yeni tanı konmuş ve uzun zamandır takip edilen, Tip I Diabetes Mellitus'lu çocuk ve adolesanlar ile kontrol grubunda CD3, CD4, CD8, CD95, CD45RA ve CD45RO T lenfosit yüzdeleri ile, intrasitoplazmik IL-1 β düzeyinin Flow Cytometry ile ölçümleri yapıldı. Tip I Diabetes Mellitus'ta, T lenfosit subgrupları yüzdelerinin ve intrasitoplazmik IL-1 β düzeyinin nasıl bir değişiklik gösterdiği araştırılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 10,14,18,22,26 ve Şekil 2-6'da gösterilmiştir.

CD3, CD4, CD8 T lenfosit yüzdeleri, hasta grupları ile kontrol grubunda karşılaştırmalı olarak incelendi. CD3 T lenfosit düzeyi, yeni tanı grubunda %27-81 arasında değişmekte olup, ortalama %68 olarak saptanmıştır. Uzun dönem grubunda ise bu değerler %57-85 arasında değişmekte olup ortalama %71.8 olarak tesbit edilmiştir. Kontrol grubunda ise %61-82 arasında olup, ortalama %70.5 bulunmuştur. CD4 T lenfosit düzeyi, yeni tanı grubunda %21-60 arasında değişmekte olup, ortalama %42 olarak saptanmıştır. Uzun dönem grubunda ise bu değerler %25-52 arasında değişmekte olup ortalama %38.7 olarak tesbit edilmiştir. Kontrol grubunda ise %32-52 arasında olup, ortalama %40.2 bulunmuştur. CD8 T lenfosit düzeyi, yeni tanı grubunda %17-42 arasında değişmekte olup, ortalama %26.5 olarak saptanmıştır. Uzun dönem grubunda ise bu değerler %14-37 arasında değişmekte olup ortalama %25 olarak tesbit edilmiştir. Kontrol grubunda ise %11-57 arasında olup, ortalama %25.2 bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre CD3, CD4, CD8 T lenfosit yüzdelerinde gruplar arasında istatistiksel açıdan bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 10 : Çalışma ve Kontrol gruplarında CD3, CD4, CD8 düzeyleri

| Gruplar | CD3(%) | CD4(%) | CD8(%) |
|------------------|--------|--------|--------|
| Yeni Tanı Grubu | 68 | 42 | 26,5 |
| Uzun Dönem Grubu | 71,8 | 38,7 | 25 |
| Kontrol Grubu | 70,5 | 40,2 | 25,2 |

Tablo 11 : Yeni Tanı Grubu ve Kontrol Grubunda CD3, CD4, CD8 düzeyleri

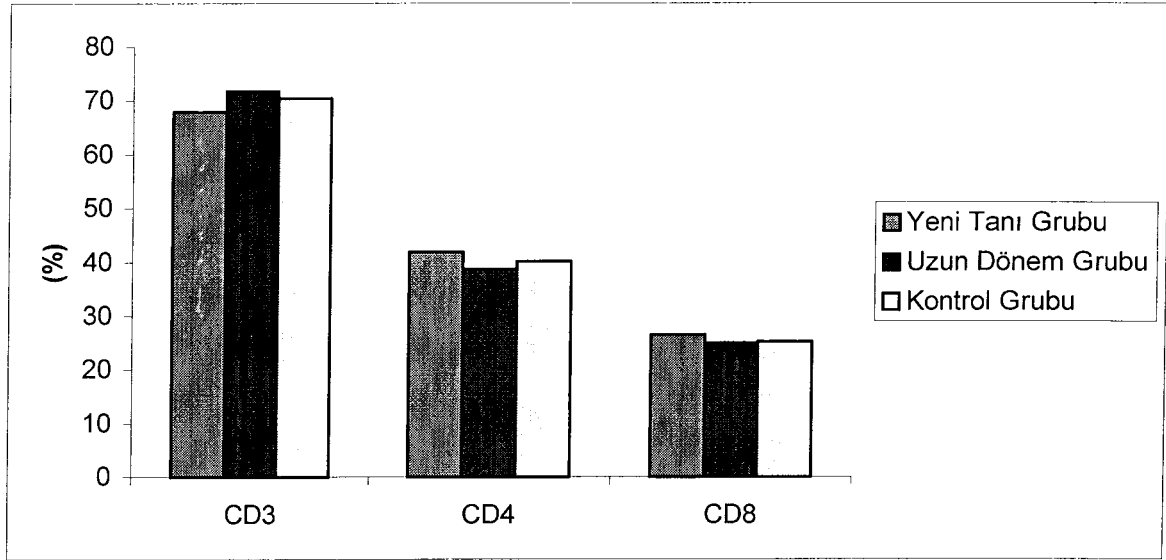
| Gruplar | CD3(%) | CD4(%) | CD8(%) |
|-----------------|----------|----------|----------|
| Yeni Tanı Grubu | 68 | 42 | 26,5 |
| Kontrol Grubu | 70,5 | 40,2 | 25,2 |
| | $p>0,05$ | $p>0,05$ | $p>0,05$ |

Tablo 12 : Uzun Dönem Grubu ve Kontrol Grubunda CD3, CD4, CD8 düzeyleri

| Gruplar | CD3(%) | CD4(%) | CD8(%) |
|------------------|----------|----------|----------|
| Uzun Dönem Grubu | 71,8 | 38,7 | 25 |
| Kontrol Grubu | 70,5 | 40,2 | 25,2 |
| | $p>0,05$ | $p>0,05$ | $p>0,05$ |

Tablo 13 : Yeni Tanı Grubu ve Uzun Dönem Grubunda CD3, CD4, CD8 düzeyleri

| Gruplar | CD3(%) | CD4(%) | CD8(%) |
|------------------|--------|--------|--------|
| Yeni Tanı Grubu | 68 | 42 | 26,5 |
| Uzun Dönem Grubu | 71,8 | 38,7 | 25 |
| | p>0,05 | p>0,05 | p>0,05 |



Şekil 2: Çalışma ve Kontrol gruplarında CD3, CD4, CD8 düzeyleri

CD95 (Fas/APO-1) antijeni aktivasyonu hasta grupları ile kontrol grubunda karşılaştırmalı olarak incelendi. CD95 T lenfosit düzeyi, yeni tanı grubunda %39-92 arasında değişmekte olup, ortalama %64 olarak saptanmıştır. Uzun dönem grubunda ise bu değerler %30-87 arasında değişmekte olup ortalama %63.6 olarak tesbit edilmiştir. Kontrol grubunda ise %40-84 arasında olup, ortalama %63.4 bulunmuştur Hasta grupları ile kontrol grubu arasında apoptotik aktivite artışına rastlanmadı ($p>0.05$).

Tablo 14 : Çalışma ve Kontrol gruplarında CD95 düzeyi

| Gruplar | CD95 (Fas/Apo-1)(%) |
|------------------|---------------------|
| Yeni Tanı Grubu | 64±15,3 |
| Uzun Dönem Grubu | 63,6±11,6 |
| Kontrol Grubu | 63,4±12,9 |

Tablo 15 : Yeni Tanı Grubu ve Kontrol Grubunda CD95 düzeyi

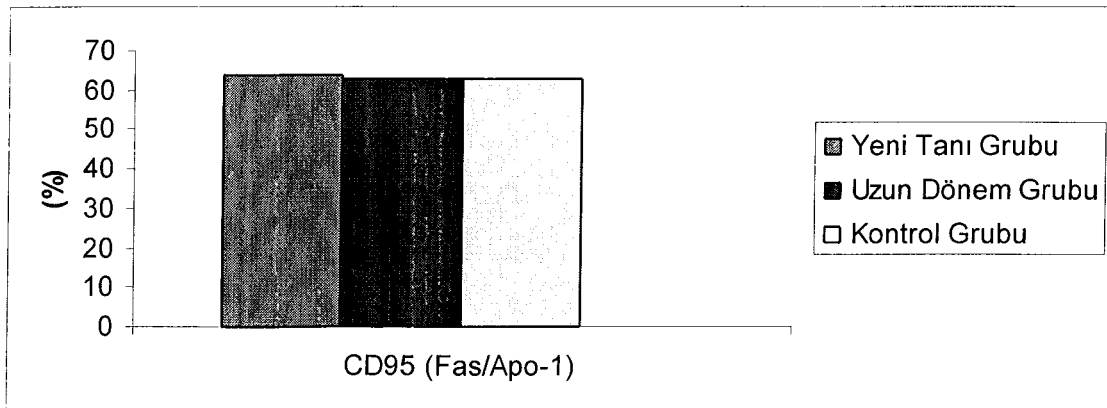
| Gruplar | CD95 (Fas/Apo-1)(%) |
|-----------------|---------------------|
| Yeni Tanı Grubu | 64±15,3 |
| Kontrol Grubu | 63,4±12,9 |
| | p>0,05 |

Tablo 16 : Uzun Dönem Grubu ve Kontrol Grubunda CD95 düzeyi

| Gruplar | CD95 (Fas/Apo-1)(%) |
|------------------|---------------------|
| Uzun Dönem Grubu | 63,6±11,6 |
| Kontrol Grubu | 63,4±12,9 |
| | p>0,05 |

Tablo 17 : Yeni Tanı Grubu ve Uzun Dönem Grubunda CD95 düzeyi

| Gruplar | CD95 (Fas/Apo-1)(%) |
|------------------|---------------------|
| Yeni Tanı Grubu | 64±15,3 |
| Uzun Dönem Grubu | 63,6±11,6 |
| | p>0,05 |



Şekil 3: Çalışma ve Kontrol gruplarında CD95 düzeyi

T hücre aktivasyonunda önemli rolü olan CD45RA (naive) ve CD45RO (memory) T lenfositleri, hasta grupları ile kontrol grubunda karşılaştırmalı olarak incelendi. CD45RA T lenfosit düzeyi, yeni tanı grubunda %64-95 arasında değişmekte olup, ortalama %78.5 olarak saptanmıştır. Uzun dönem grubunda ise bu değerler %52-96 arasında değişmekte olup ortalama %75.8 olarak tesbit edilmiştir. Kontrol grubunda ise %57-88 arasında olup, ortalama %75.5 bulunmuştur. CD45RO T lenfosit düzeyi, yeni tanı grubunda %17-63 arasında değişmekte olup, ortalama %33.5 olarak saptanmıştır. Uzun dönem grubunda ise bu değerler %14-60 arasında değişmekte olup, ortalama %32.6 olarak tesbit edilmiştir. Kontrol grubunda ise %15-61 arasında olup, ortalama %31.5 bulunmuştur. CD45RA ve CD45RO T lenfosit yüzdelerinde, gruplar arasında istatistiksel açıdan bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$).

Tablo 18 : Çalışma ve Kontrol gruplarında CD45RA ve CD45RO düzeyleri

| Gruplar | CD45RA(%) | CD45RO(%) |
|------------------|-----------|-----------|
| Yeni Tanı Grubu | 78,5±7,9 | 33,5±15,6 |
| Uzun Dönem Grubu | 75,8±9,8 | 32,6±10,1 |
| Kontrol Grubu | 75,5±8,5 | 31,5±10,0 |

Tablo 19 : Yeni Tanı Grubu ve Kontrol Grubunda CD45RA ve CD45RO düzeyleri

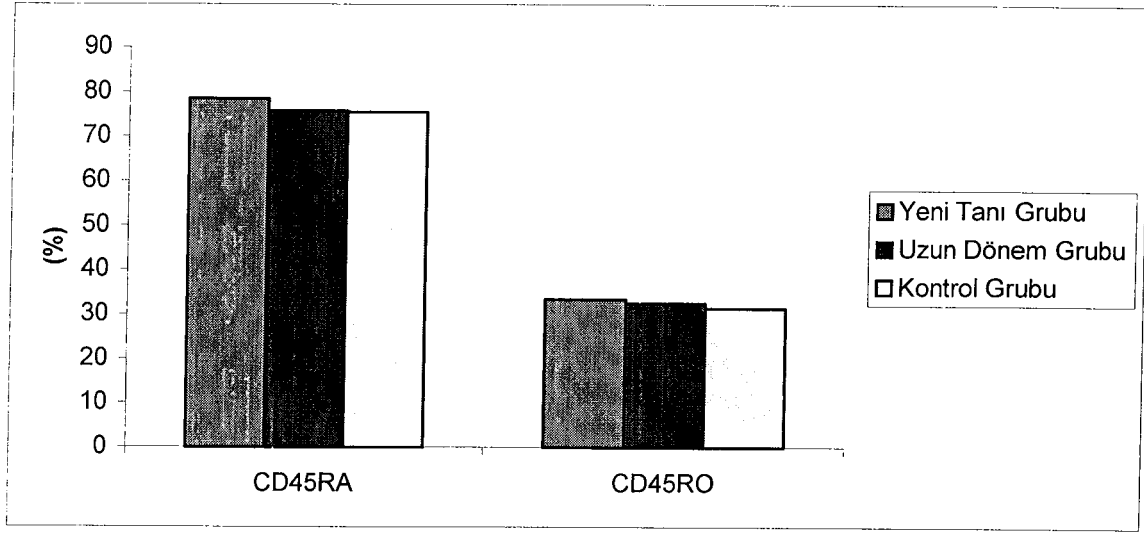
| Gruplar | CD45RA(%) | CD45RO(%) |
|-----------------|-----------|-----------|
| Yeni Tanı Grubu | 78,5±7,9 | 33,5±15,6 |
| Kontrol Grubu | 75,5±8,5 | 31,5±10,0 |
| | $p>0,05$ | $p>0,05$ |

Tablo 20 : Uzun Dönem Grubu ve Kontrol Grubunda CD45RA ve CD45RO düzeyleri

| Gruplar | CD45RA(%) | CD45RO(%) |
|------------------|-----------|-----------|
| Uzun Dönem Grubu | 75,8±9,8 | 32,6±10,1 |
| Kontrol Grubu | 75,5±8,5 | 31,5±10,0 |
| | $p>0,05$ | $p>0,05$ |

Tablo 21 : Yeni Tanı Grubu ve Uzun Dönem Grubunda CD45RA ve CD45RO düzeyleri

| Gruplar | CD45RA(%) | CD45RO(%) |
|------------------|-----------|-----------|
| Yeni Tanı Grubu | 78,5±7,9 | 33,5±15,6 |
| Uzun Dönem Grubu | 75,8±9,8 | 32,6±10,1 |
| | p>0,05 | p>0,05 |



Şekil 4: Çalışma ve Kontrol gruplarında CD45RA ve CD45RO düzeyleri

Tip I Diabetes Mellitus'ta IL-1 β aktivasyonunu araştırmak amacıyla, intrasitoplazmik IL-1 β düzeyi, hasta grupları ile kontrol grubunda karşılaştırmalı olarak incelendi. IL-1 β , yeni tanı grubunda %21-68 arasında değişmekte olup, ortalama %44.1 olarak saptanmıştır. Uzun dönem grubunda ise bu değerler %16-87 arasında değişmekte olup, ortalama %53.2 olarak tesbit edilmiştir. Kontrol grubunda ise %7-74 arasında olup, ortalama %40.9 bulunmuştur. IL-1 β düzeyi, uzun dönem hastalarda, kontrol grubu ve yeni tanı diyabetik hastalara göre istatistiksel açıdan anlamlı bulundu (p=0.02). IL-1 β düzeyi, yeni tanı dönemindeki hastalarda da kontrol grubuna göre yüksek tespit edildi ama istatistiksel açıdan bir fark tespit edilememiştir (p>0.05).

Tablo 22 : Çalışma ve Kontrol gruplarında intrasitoplazmik IL-1 β düzeyi

| Gruplar | IL-1 β (%) |
|------------------|------------------|
| Yeni Tanı Grubu | 44,1 \pm 17,0 |
| Uzun Dönem Grubu | 53,2 \pm 16,8 |
| Kontrol Grubu | 40,9 \pm 15,3 |

Tablo 23 : Yeni Tanı Grubu ve Kontrol Grubunda intrasitoplazmik IL-1 β düzeyi

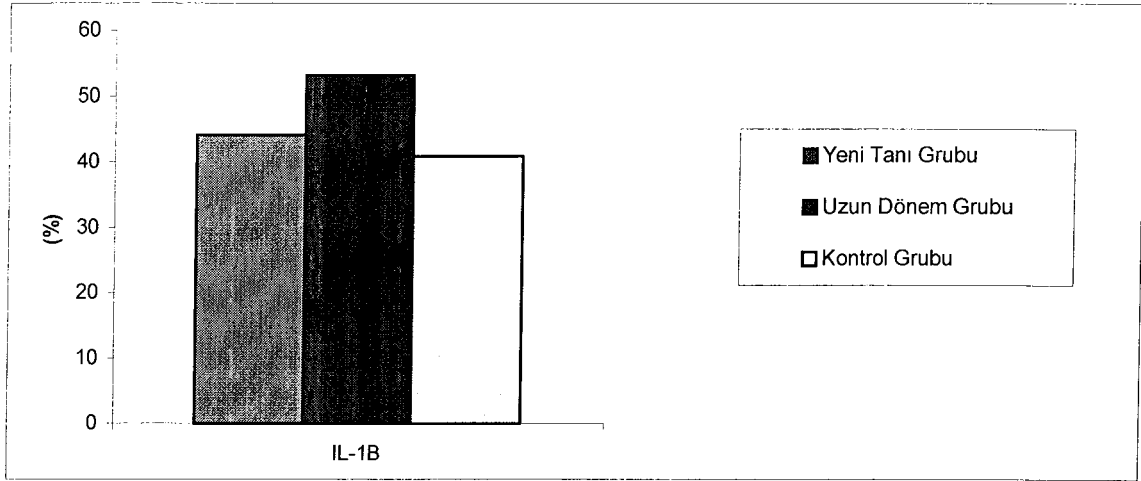
| Gruplar | IL-1 β (%) |
|-----------------|------------------|
| Yeni Tanı Grubu | 44,1 \pm 17,0 |
| Kontrol Grubu | 40,9 \pm 15,3 |
| | p>0,05 |

Tablo 24 : Uzun Dönem Grubu ve Kontrol Grubunda intrasitoplazmik IL-1 β düzeyi

| Gruplar | IL-1 β (%) |
|------------------|------------------|
| Uzun Dönem Grubu | 53,2 \pm 16,8 |
| Kontrol Grubu | 40,9 \pm 15,3 |
| | p=0,02 |

Tablo 25 : Yeni Tanı Grubu ve Uzun Dönem Grubunda intrasitoplazmik IL-1 β düzeyi

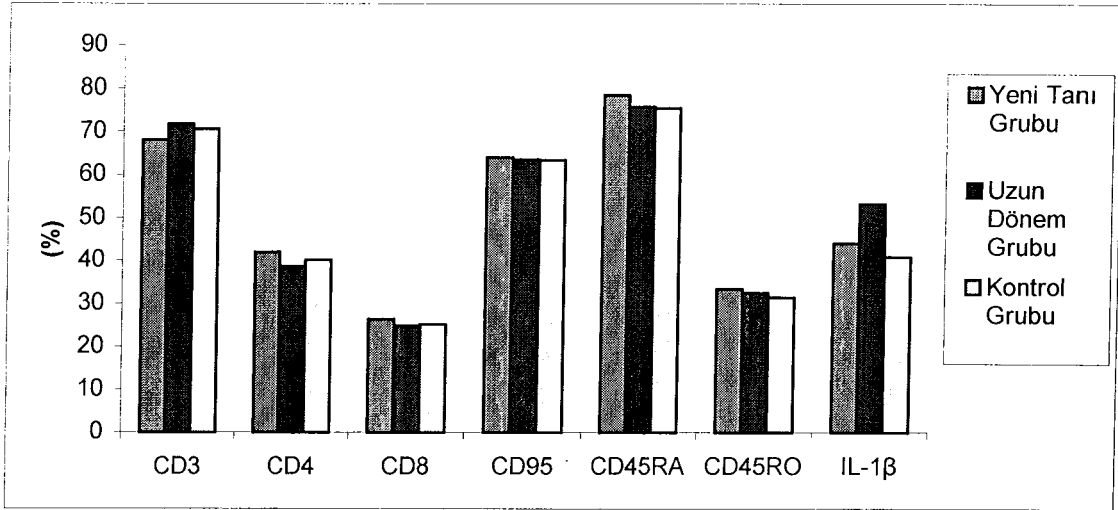
| Gruplar | IL-1 β (%) |
|------------------|------------------|
| Yeni Tanı Grubu | 44,1 \pm 17,0 |
| Uzun Dönem Grubu | 53,2 \pm 16,8 |
| | p=0,02 |



Şekil 5: Çalışma ve Kontrol gruplarında intrasitoplazmik IL-1β düzeyi

Tablo 26 : Otoimmün Tip I Diabetes Mellitus'lu çocuk ve adolesanlar ile kontrol gruplarında T lenfosit subgrupları ve IL-1β düzeyinin karşılaştırılması

| | Yeni Tanı Grubu | Uzun Dönem Grubu | Kontrol Grubu |
|-----------|-----------------|------------------|---------------|
| CD3(%) | 68.0 ±14.3 | 71,8 ± 7.7 | 70,5 ± 5.8 |
| CD4(%) | 42.0 ± 10.9 | 38,7 ± 6.6 | 40,2 ± 6.0 |
| CD8(%) | 26,5 ± 6.5 | 25.0 ± 5.5 | 25,2 ± 10.7 |
| CD95(%) | 64 ±15.3 | 63,6 ± 11.6 | 63,4 ± 12.9 |
| CD45RA(%) | 78,5 ± 7.9 | 75,8 ± 9.8 | 75,5 ± 8.5 |
| CD45RO(%) | 33,5 ±15.6 | 32,6 ±10.1 | 31,5 ± 10.0 |
| IL-1β(%) | 44,1± 17.0 | 53,2 ±16.8 | 40,9 ±15.3 |



Şekil 6 : Otoimmün Tip I Diabetes Mellitus'lu çocuk ve adolesanlar ile kontrol grubunda T lenfosit subgrupları ve IL-1 β düzeylerinin karşılaştırılması

TARTIŞMA

Çocukluk ve adolesan döneminin en sık görülen endokrin ve metabolik bozukluğu olan İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus, ilerleyici ve uzun süreli bir hastalık olması, metabolik kontrolün iyi olmadığı hastalarda, hayatı tehdit eden akut ve kronik komplikasyonlara yol açması nedeniyle önemini korumaktadır. Etyolojisinde genetik, otoimmün ve çevresel faktörler rol oynamaktadır. Daha önce yapılan çalışmalarda, biri diyabetli olan tek yumurta ikizlerinden diğesinde de yüksek olasılıkla hastalık gelişmesi, diyabetlilerin anne, baba ve kardeşlerinde, diyabet sıklığının diyabetik olmayanlara göre daha yüksek oluşu, genetik yatkınlığı gösteren bulgulardır. Ayrıca hastalığın histokompatibilite antijenleri (HLA) ile ilişkisi de bilinmekte olup, bazı HLA antijenleri beta hücre hasarı riskini arttırırken bazıları azaltır. Viral enfeksiyonlar, stres, toksinler ve beslenmeye bağlı faktörler gibi çevresel etmenlerin, hastalığın ortaya çıkışında önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (1). Hastalığın etyolojisinde otoimmünite sorumlu tutulmaktadır. Hümmoral ve hüccresel immünite ile birlikte, sitokin düzeyleri ve aktivasyonuna ilişkin değışiklikler de görölmektedir.

Biz bu çalışmamızda, hüccresel immünite parametrelerinin ve IL-1 β sitokininin düzeyini ve bunların otoimmüniteye etkisini çalışmayı amaçladık. Bu amaçla, otoimmün aktivasyonda rol oynayan total T lenfosit, yardımcı ve sitotoksik T lenfosit yüzdeleri ile, yardımcı T lenfosit aktivasyonunda önemli rol oynayan CD45RA (naive) ve CD45RO (memory) T lenfositleri düzeyi, beta hücre destrüksiyonunda apoptozisin etkisini göstermek amacıyla CD95 düzeyi ve ikincil haberci ve sinyalizasyon rolü oynayan, inflamasyonla yakın ilişkisi olan IL-1 β düzeyi çalışılmıştır. Tip I Diabetes Mellitus'un gelişimi ve ilerlemesinde hüccresel immünite ve IL-1 β sitokininin rolü olup olmadığını araştırmak amacıyla, Tip I diyabetik çocuk ve adolesanlar, yeni tanı dönemi ve uzun dönem olarak ayrı dönemde incelenmiş, elde edilen sonuçlar hastalığın değışik evrelerinde birbirleri ve kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Çalışmamızda, Tip I diyabette, yeni tanı almış ve uzun dönem hastalarda CD3, CD4 ve CD8 T lenfositlerinin nasıl bir değişiklik gösterdiğini araştırdık ve sonuçları kontrol grubu ile karşılaştırdık. Literatür çalışmalarına bakıldığında ise, gerek çocuk ve adolesanlarda, gerekse yetişkin Tip I diyabet hastalarında, erken ve uzun dönemde, CD3, CD4 ve CD8 T lenfosit düzeyleri çok değişkenlik göstermektedir. Petersen ve ark.'nın (60), yeni tanı konmuş ve uzun dönem Tip I diyabetik hastalarda yaptıkları bir çalışmada, gruplar arasında CD8 T lenfosit yüzdeleri arasında bir farklılık yokken, yeni tanı konmuş hastalarda CD4 T lenfosit düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş. Ilonen ve ark.'nın (61), Tip I diyabetik 25 çocukta yaptıkları çalışmada CD4 CD45RA (naive) hücrelerinde belirgin artış saptanırken, CD8 T lenfosit yüzdeleri kontrol grubuna göre benzer bulunmuş, CD3 T lenfosit ve HLA-DR antijenleri ise yeni tanı alan vakalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş. Gruplar arasında farklı çıkan bu sonuçlara göre, IBDM'ta, T hücre subgruplarının dağılımında ve immün regülasyonda görülen anormallikler, hastalığın temelindeki bozuklukları anlamamıza yardımcı olacaktır şeklinde yorumlanmış. Peakman ve ark. (62), ikizlerde yaptıkları bir çalışmada, CD8 (Sitotoksik/Supresör) T lenfositlerinin diyabet gelişimindeki rollerini araştırmak amacıyla, prediyabetik, diyabetik olmayan ve düşük risk taşıyan ikizleri prospektif olarak 10 yıl boyunca incelemişler. CD3 ve CD4 T lenfositleri, prediyabetik ve düşük risk taşıyan grupta, kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş, CD8 T lenfositleri ise sadece prediyabetik ikizlerde yüksek bulunmuş. Anormal CD8 T lenfosit yüksekliğinin, diyabetin gelişiminde önemli bir pozitif bulgu olduğu ve prediyabette tanıda ve adacık hücre harabiyetinde önemli rol oynadığı gösterilmiş. Kaaba ve ark.'nın (63), Tip I diyabetik hasta ve birinci derece yakınlarında yaptıkları bir çalışmada ise, HLA-DR ve T lenfosit subgrupları incelenmiş, CD4 T lenfositlerinde bir farklılık saptanmazken, CD8 T lenfositlerinde ise kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalma saptanmış. CD3 T lenfositlerinde ise, diyabetik hasta ve birinci derece yakınlarında belirgin artış saptanmış. Bu bulgularla, T lenfosit subgrup anormalliklerinin, IBDM patogeneğinde sadece hücresel immünitinin etkisini göstermeyip, aynı zamanda ailede IBDM öyküsü olan, erken prediyabetik evrelerde de belirgin olduğu yorumu yapılmış. Hehmke ve ark.'nın yaptığı bir

çalışmada ise (64), yeni tanı konmuş Tip I diyabet hastalarında, CD3, CD4 ve CD8 T lenfosit düzeyleri incelenmiş. Yeni tanı almış Tip I diyabetik hastalarda aktive CD3 T lenfosit düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuş, CD4 T lenfosit düzeylerinde hafif artış olmasına karşın, CD8 T lenfositlerindeki anlamlı artışın, İBDM başlangıcında, CD8 T lenfositlerinin önemli rol oynadığı gösterilmiş. Peakman ve ark. (65), yaptıkları başka bir çalışmada, Tip I diyabetik çocuklar ile birinci derece akrabalarında CD3, CD4 ve CD8 T lenfosit düzeylerini incelemişler. Tip I diyabetik çocuklarda total lenfosit sayısında azalma saptamışlar. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, diyabetik olmayan yakınlarında CD4 T lenfosit sayısında azalma saptanırken, diyabetik çocukların anne ve babalarında CD3 T lenfosit düzeyleri düşük bulunmuş. CD4 T lenfosit oranları ise her üç grupta da yüksek bulunmuş. T lenfosit subgrup anormalliklerini etkilenmemiş aile bireylerinde de göstermişler ve belki de bunların HLA-DR alelleri ile ilişkili olabileceğini yorumlamışlar. Buschard ve ark. (66), ise yeni tanı, uzun dönem diyabetik hastalar ile kontrol grubunda lenfosit subgruplarını çalışmışlar, CD4 T lenfosit düzeylerini her 3 grupta da benzer bulmuşlar, uzun dönem hastalarda ise CD8 T lenfosit yüzdelerini düşük bulmuşlar. Her iki hasta grubunun metabolik durumları benzer olup, metabolik ve immünolojik parametreler arasında bir korelasyon yoktu. Lenfosit subgruplarının, özellikle CD8+ lenfositlerinin normal dağılımının, beta hücre fonksiyonu gösteren hastalarda nedensel anlamı yoksa bir belirteç olarak mı görev yaptığı hala bilinmemektedir şeklinde yorumlanmış. Bizim çalışmamızda ise, CD3, CD4 ve CD8 T lenfosit düzeylerinde gruplar arasında küçük değişiklikler saptanmakla birlikte istatistiksel bir fark tespit edilememiştir. İkizlerde ve etkilenmemiş birinci derece akrabalarda da, hastalık genetik geçtiği ve aile fertlerinde ileride diyabet gelişme ihtimali olduğundan, anormallikler vardır. Yapılan çalışmalarda, tanı anında, ilk aylarda ve uzun dönemde T lenfositlerinde görülen bu anormallikler, Tip I Diabetes Mellitus'un patogenezinde, immün mekanizmaların rol oynadığı şeklinde kabul edilebilir.

Çalışmamızda, CD4 T Helper lenfositlerinin aktivasyonunda rol oynayan CD45RA (naive) ve CD45RO (memory) lenfosit düzeyleri Tip I diyabetik hastalarda, yeni tanı dönemi ve uzun dönemde, kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak incelendi. CD45RA düzeyi, yeni tanı Tip I diyabetik hastalarda, kontrol

grubuna göre yüksek bulunmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). CD45RO düzeyi de, yeni tanı Tip I diyabetik hastalarda, kontrol grubuna göre yüksek bulunmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$). Smerdon ve ark. (67), 34 yeni tanı Tip I diyabetik hasta ile 21 uzun dönem tanıli diyabetik hasta ve benzer cins ve yaşta sağlıklı kontrol grubunda, CD4 ve CD8 T lenfositlerinin CD45 izoformlarının (CD45RA ve CD45RO) ekspresyonunu araştırmışlar. Yeni tanı konmuş Tip I diyabetik hastalarda, CD4 ve CD8 T lenfositler üzerinde CD45RA ve CD45RO'nun aynı anda ko-ekspresyonunu, kontrol grubuna göre yüksek olarak bulmuşlar ($p<0.001$). Yalnızca CD45RA ekspresse eden CD4 T lenfositlerinin oranı bu grupta benzer bulunmuş, buna karşın sadece CD45RO ekspresse eden CD8 T lenfositlerinin yüzdesi yeni tanı konmuş Tip I diyabetik hastalarda belirgin olarak yüksek tespit edilmiş ($p<0.05$). Yeni tanı konmuş Tip I diyabette, CD4 ve CD8 T lenfositler üzerindeki CD45RA fenotiplerindeki ekspresyondaki belirgin artış, bu değişikliklerin sonucu olarak düşünülmüştür. Uzun dönem diyabetik hastalarda, CD4 ve CD8 T lenfositler üzerindeki total CD45RA ekspresyonu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin olarak azaldığı tespit edilmiş ($p<0.05$). Yeni tanı konmuş Tip I diyabetik hastalarda, total naive (CD45RA) lenfositlerinde CD4 ve CD8 T lenfositlerinin subgrupları üzerindeki CD45RA (naive) ve CD45RO (memory) belirteçlerinin koekspresyonundaki artış, T hücre aktivasyonunun ve maturasyonunun, Tip I Diabetes Mellitus patogenezindeki önemini göstermektedir. Peakman ve ark. (68), yaptıkları bir çalışmada, Tip I Diabetes Mellitus'ta CD45RA ve CD45RO T lenfositlerinde artış olduğunu göstermişler. Bununla birlikte, İBDM tanısından sonra CD45RA ve CD45RO lenfositlerinin sayısı gerileme eğilimindedir ve uzun süreli İBDM hastalarında normale dönmüştür. Aynı zamanda genetik olmayan faktörlerinde CD45RA ve CD45RO ekspresyonunu etkileyebileceği kanısına varmışlar. Petersen ve ark. (60), yeni tanı konmuş 77 ve diyabet süresi 6 aydan fazla olan 58 İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus'lu hastada, CD45RA ve CD45RO düzeylerini değerlendirmişler, CD45RA ve CD45RO ko-ekspresyonunun, uzun süreli hastalığı olanlar kadar, yeni tanı konmuş diyabetik hastalarda da kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığını göstermişlerdir. Peakman ve ark. (69), ikizler üzerinde yaptıkları bir başka çalışmada, 18 ikiz kardeşi prospektif olarak 10 yıl

izlemişler. Tip I diyabetik 18 ikiz kardeşten, diyabetten korunan ikiz kardeş eşlerinden, ileride diyabet olma riski taşıyan 8 tanesi, 8 yıl izlenerek diyabet gelişip gelişmediğini araştırmışlar. Çalışmanın başlangıcında CD45RA CD4 T lenfositlerinin yüzdesi prediyabetik ikizlerde anlamlı olarak artmış bulunmuş ($p<0.05$) ve çalışma boyunca bu şekilde devam etmiş ($p<0.01$). Diyabetten korunan ikizlerde, naive hücrelerinin yüzdelerinin, çalışmanın başlangıcında ve devamında, kontrol örnekleriyle karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı gösterilmiş ($p<0.05$). Buna karşıt olarak CD45RO (memory) T lenfositlerinin yüzdeleri diyabetten korunan ikizlerde prediyabetik ikizlerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak artmış bulunmuş ($p<0.05$). CD45RO T lenfositlerinin seviyesi prediyabetik ikizlerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise, çalışmanın başlangıcında ve devamında belirgin olarak azalma olduğu belirtilmiş. CD4 T lenfosit popülasyonunun CD45RA ve CD45RO ko-ekspresyonu seviyelerinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığı zaman tüm gruplarda çalışmanın başından sonuna kadar artış olduğu saptanmış, ama sadece prediyabetik ikizlerde bu artışın persistan olarak devam ettiği gösterilmiş. Sonuç olarak, bellek yardımcı T lenfositlerdeki aşırı ekspresyonun immün bozukluklar ile ilişkili olduğu, bu bulgunun saptanmadığı ikizlerde, genetik yatkınlık olsa dahi, Tip I diyabet gelişmediği gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da, yeni tanı Tip I diyabetik hastalarda, kontrol grubuna göre CD4 T lenfositlerde hafif artış saptandı. CD45RA ve CD45RO T lenfositlerde de saptanan bu hafif artışın, CD4 T lenfosit artışı ile aynı seviyelerde olduğu belirlendi. Bu artışlar anlamlı olmasa da, artışların aynı oranda olması bize Tip I Diabetes Mellitus'ta CD4 T lenfositleri ve CD45RA ve CD45RO'nun aralarındaki ilişkiyi ortaya koymaktadır. T hücre aktivasyonunda önemli rol oynayan bellek hücrelerinin, diyabetin ileri dönemlerindeki etkisini göstermek için daha geniş ve uzun süreli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Biz yaptığımız çalışmada, CD95 düzeyini, yeni tanı ve uzun dönem Tip I diyabetik hastalarda kontrol grubu ile karşılaştırmalı olarak araştırdık ve gruplar arasında istatistiksel bir fark bulamadık. Giordano ve ark. (70), İBDM patogenezinde CD95 reseptörü içeren bir defektin etkili olup olmayacağını araştırmak için, Tip I diyabetin farklı döneminde Flow Cytometry yöntemi ile CD95 T lenfosit düzeylerini çalışmışlar. Hem yeni tanı, hem de uzun dönem diyabetik

hastalarda, CD95 ekspresyonunun yüksek derecede defektif olduğunu saptamışlar. Bu çalışma hücre yüzeylerinde normal miktarlarda CD95 molekülü eksprese eden monositlerde yapılmış. Yeni tanı konmuş Tip I diyabetik hastaların T hücreleri, invitro olarak anti CD3 monoklonal antikoru ile aktivasyondan sonra, tam hücre kültürü periyodu esnasında kontrol grubuna göre azalmış bir CD95 ekspresyonu göstermiş. Bu çalışmada klinik ve prelinik dönemdeki bireylerde T ve B lenfositlerde apoptozisi indükleyen CD95 reseptörünün azalmış ekspresyonu bulunmuş. Stassi ve ark. (71), CD95 (Fas/Apo-1) reseptörünün, pankreatik beta hücreleri üzerine destrüktif etkisini araştırmışlar. Normal insanların beta hücrelerinde Fas ekspresyonu saptanmazken, yeni tanı konmuş İBDM'lu hastalarda kuvvetli apoptozis gösteren Fas ekspresyonu saptamışlar. IL-1 β eklenmesinden sonra ise normal insan pankreatik beta hücrelerinin de Fas pozitif hale geldiğini göstermişler. Nitrik oksit, normal pankreatik beta hücrelerinde fonksiyonel Fas ekspresyonunu indüklediği bilinmektedir. Ayrıca bir nitrik oksit (NO) sentez inhibitörü olan, NG-monometil-L-arginin'in IL-1 β ile indüklenen Fas ekspresyonunu önlediği gösterilmiş. Bu bulgular ışığında NO ilişkili anormal Fas ekspresyonunun, İBDM'lu hastalarda pankreas beta hücre hasarına yol açtığını tesbit etmişler. Stassi ve ark. (72), Fas reseptörü ve apoptozisi değerlendirmek amacıyla yaptıkları bir başka çalışmada ise, Fas basamaklarının aktivasyonunu takiben insan pankreatik beta hücrelerinin uğradığı hasarı araştırmışlar. Fas basamaklarının aktivasyonunun, anti-Fas monoklonal antikoru ile 24 saat inkübasyonu ile indüklendikten ve IL-1 β ilavesinden sonra, pankreas beta hücrelerinde yüksek oranda apoptozis (82 ± 5.6) saptanmış. Bu sonuç da bize, Fas basamağının beta hücre hasarı ve IL-1 β ile ilişkili hücre ölümünün belirlenmesinde önemli görev aldığını göstermektedir. Yapılan çalışmalar CD95 (Fas/Apo-1) reseptörünün pankreas beta hücre hasarı ve otoimmün İBDM patogenezinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Fakat CD95 düzeylerinin diyabetin farklı evrelerinde nasıl değişiklikler gösterdiğini anlamak için daha fazla ve kapsamlı çalışmaya ihtiyaç vardır.

IL-1'in beta hücreleri üzerindeki destrüktif etkisini gösteren deneysel çalışmalar yapılmıştır. Chung ve ark. (73), diyabete dirençli Bio-Breeding (DR-BB) sıçanlarda KRV (Kilham Rat Virus) ile indüklenen diyabet patogenezinde makrofaj ve

makrofaj kaynaklı sitokinlerin rolünü araştırmışlar. Spontan olarak insülitis veya diyabet görülmeyen diyabete dirençli sıçanlarda, KRV ile infeksiyon sonrası diyabete yatkın sıçanlardakine benzer şekilde otoimmün diyabetin geliştiğini göstermişler. KRV infeksiyonundan sonra, dalak lenfositlerinde ve pankreas adacıklarında IL-1 β , TNF- α , IL-12 gibi makrofaj kaynaklı sitokinlerin ekspresyonunda artış gözlemlenmişler. Bu bulgulara dayanarak, makrofaj ve makrofaj kaynaklı sitokinlerin, pankreatik beta hücrelerinde destrüksiyona yol açarak IBDM gelişiminde önemli rol oynadığını göstermişlerdir. Zhidong ve ark. (74), sıçanlar üzerinde yaptıkları bir çalışmada, yetişkin sıçan adacıklarını 3U/ml insan rekombinant IL-1 β ile kültürde bırakarak, beta hücrelerinde %50, alfa hücrelerinde ise yüksek miktarda ölüm olduğunu göstermişler. Ayıklanmış alfa ve beta preparasyonlarında, IL-1'in yüksek dozlarda dahi (30 U/ml) sitodestrüktif etkisi saptanmamış. Buna karşın izole beta hücrelerinin, 0.3 U/ml düşük dozlarda IL-1 ile indüklenmesiyle hormon sentezinin baskılanmasına daha duyarlı olduklarını göstermişler. Bu inhibitör etkinin reversibl olduğunu, hücrelerin şekil ve bağlarında değişiklik yaparak, hücrelerde degranülasyona yol açmak suretiyle özellikle insülin salgılayan hücreleri etkilediklerini tesbit etmişlerdir. Loweth ve ark. (75), insan Langerhans adacık hücrelerinin, IL-1 β ile karşılaştıktan sonra apoptozise uğradıklarını göstermişler. IL-1 β 'nin aynı zamanda, uyarıcı bir anti-Fas antikoru ile tedavide apoptozise uğrayan hücrelerin sayısını arttırdığını göstermişler. Bu çalışma, insan adacık hücrelerinin, IL-1 β uyarımı ile apoptozis yoluyla hasara uğradığını göstermektedir. Eizirik ve ark. (76), insan pankreatik adacık hücreleri üzerine, IL-1 β 'nin etkilerini araştırmışlar. Bu amaçla yetişkin kadavralarından elde edilen adacık hücrelerine farklı zamanlarda 1 veya 3ng/ml IL-1 β uygulamışlar. İnsan adacık hücrelerinde, kısa dönem inkübasyon sırasında insülin salınımında belirgin düşüş olduğunu ve aynı zamanda IL-1 β varlığında glukoz oksidasyon derecesinin değişmediğini saptamışlar. Ayrıca IL-1 β 'nin insan adacık hücreleri üzerine stimülatör etkisinin, IL-1 reseptör antagonisti bir protein ile bloke edildiğini göstermişler. Rieneck ve ark. (77), sıçan pankreatik beta hücreleri üzerine rekombinant insan IL-1 β uygulamışlar, 4 günlük bir periyottan sonra insülin üretiminde belirgin azalma tesbit etmişler. El-Nawawy ve ark. (78), dolaşımda bulunan TNF- α ve IL-1 β düzeyini, 30 Tip I diyabetik çocukta, 30 diyabetik olmayan

yakınlarında ve 30 aynı yaş grubundaki sağlam çocukta ölçmüşler. IL-1 β düzeyi kontrol grubu ve diyabetik grupta benzer bulunmuş. Bizim çalışmamızda, intrasitoplazmik olarak monositlerde çalışılan IL-1 β düzeyi, yeni tanı diyabetik hastalarda artmaya başlamış, uzun dönem Tip I Diabetes Mellitus'lu hastalarda hem kontrol grubu hem de yeni tanı diyabetik hastalara göre anlamlı yüksek bulunmuştur (p=0.02). Daha önce yapılan çalışmalarda, IL-1 β düzeyi düşük bulunmuş. Fakat bu serumda dolaşan IL-1 β düzeyi olduğu için, başka faktörlerde etkili olmuş olabilir. Bizim çalışmamızda ise, IL-1 β , monositlerde intrasitoplazmik olarak çalışıldığından, diğer çalışmalardan farklı sonuç bulunmuştur. İmmün sistemin işleyişinde önemli rol oynayan monositlerde, IL-1 β reseptörlerinin yüksek olarak saptanması, adacık hücrelerine karşı inflamasyonun başlamasında sitokinlerin tetik mekanizması görevi gördüğü şeklinde yorumlanabilir. Bu hipotezi desteklemek için, IL-1 dışındaki diğer sitokin düzeylerinin de Tip I diyabette nasıl bir değişiklik gösterdiğinin belirlenmesi amacıyla yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. IL-1 β sitokininin, pankreas beta hücreleri üzerine direk destrüktif etkili olduğu bilindiği için, uzun dönemde yüksek bulduğumuz bu değer Tip I diyabetin patogenezi için anlamlı olabilir. Sonuç olarak, intrasitoplazmik sitokin düzeylerinin, uzun dönem Tip I diyabetik hastalarda yüksek olarak bulunması, immün sistem mekanizmaları ve sitokin düzeylerinin moleküler düzeyde incelenmesinin, Tip I Diabetes Mellitus'un patogenezinde yeni ufuklar açacağı ve patogenetik mekanizmaların aydınlatılmasında önemli rol oynayacağı ileri sürülebilir.

SONUÇLAR

1. Yeni tanı konmuş ve uzun dönem diyabetik hastalarla, kontrol gruplarının ortalama yaş ve cinsleri arasında fark yoktu.
2. Yeni tanı konmuş ve uzun dönem diyabetik hastalarla kontrol grubu arasında, CD3 T lenfosit yüzdelerinde bir fark bulunamamıştır. Yeni tanı dönemindeki hastalarda, CD3 düzeyi kontrol grubuna göre biraz düşük olmakla birlikte istatistiksel bir fark tespit edilememiştir.
3. Yeni tanı konmuş ve uzun dönem diyabetik hastalarla kontrol grubu arasında, CD4 T lenfosit yüzdelerinde bir fark bulunamamıştır. Yeni tanı dönemindeki hastalarda CD4 düzeyi kontrol grubuna göre yüksek olmakla birlikte istatistiksel bir fark tespit edilememiştir.
4. Yeni tanı konmuş ve uzun dönem diyabetik hastalarla kontrol grubu arasında, CD8 T lenfosit yüzdelerinde bir fark bulunamamıştır.
5. Yeni tanı konmuş ve uzun dönem diyabetik hastalarla kontrol grubu arasında, CD95 T lenfosit yüzdelerinde bir fark bulunamamıştır.
6. Yeni tanı konmuş ve uzun dönem diyabetik hastalarla kontrol grubu arasında, CD45RA T lenfosit yüzdelerinde bir fark bulunamamıştır. Yeni tanı diyabetik hastalarda kontrol grubuna göre CD45RA düzeyi yüksek olmakla birlikte istatistiksel bir fark tespit edilememiştir.
7. Yeni tanı konmuş ve uzun dönem diyabetik hastalarla kontrol grubu arasında, CD45RO T lenfosit yüzdelerinde bir fark bulunamamıştır.
8. Yeni tanı konmuş diyabetik hastalarda, IL-1 β düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulunmakla birlikte istatistiksel bir fark tespit edilememiştir. Uzun dönem diyabetik hastalarda ise IL-1 β düzeyi, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

ÖZET

Diabetes Mellitus, insülin sekresyonunda veya insülin etkisinde yetersizlik sonucu ortaya çıkan, ilerleyici ve komplikasyonları nedeniyle hayatı tehdit edebilen bir hastalıktır. İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus, çocukluk çağında en sık görülen endokrin-metabolik hastalıktır. Etiyolojisinde farklı faktörler rol oynamaktadır. İnsülin eksikliği sonucu, yalnız karbonhidrat değil, protein ve yağ metabolizmasında da bozukluklar ortaya çıkar. Akut komplikasyonlardan diyabetik ketoasidoz ve hipoglisemi, kronik komplikasyonlardan ise nöropati, retinopati ve nefropati hayatı tehdit eden ve yaşam kalitesini etkileyen önemli komplikasyonlardır. Uygun bir diyet ve insülin tedavisi ile birlikte, dikkatli bir izlem sonucu, metabolik kontrolün iyi olduğu hastalar normal yaşamlarını sürdürebilmektedirler. Bizim bu çalışmada, yeni tanı konmuş Tip I diyabetik hastalar ile, daha önce diyabet tanısı konmuş ve en az 12 aydır takip edilen hastalar ve sağlam çocuklar arasından seçilen kontrol grubu arasında lenfosit subgrupları ve IL-1 β düzeyi araştırıldı. Bu parametrelerin nasıl bir değişiklik gösterdiği ve diyabetin gelişimindeki ilişkileri araştırıldı.

Yeni tanı konmuş, yaş ortalaması 8.3 \pm 4.1 yıl olan 12 Tip I diyabetik çocuk ve adolesan ile, yaş ortalaması 11.0 \pm 4.3 yıl olan 28 uzun dönem Tip I diyabetik çocuk ve adolesan ile başka bir otoimmün hastalığı olmayan, yaş ortalaması 9.4 \pm 3.8 yıl olan 22 sağlam çocuk ve adolesan kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi. Her 3 grupta CD3 T lenfosit, CD4 T lenfosit, CD8 T lenfosit, CD95 T lenfosit, CD45RA ve CD45RO T lenfosit yüzdeleri ile, intrasitoplazmik IL-1 β düzeyi, Flow Cytometry yöntemi ile ölçüldü.

Her üç grupta da CD3, CD4, CD8, CD95, CD45RA ve CD45RO T lenfosit yüzdeleri arasında istatistiksel bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Intrasitoplazmik IL-1 β düzeyi ise kontrol grubuna göre yeni tanı almış Tip I diyabetik hastalarda biraz artmış olarak bulundu, bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($p>0.05$). Uzun dönem diyabetik hastalarda ise IL-1 β düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p=0.02$).

Literatür taramalarında, otoimmün Tip I diyabetik hastalarda, lenfosit subgruplarında çok değişik sonuçlar bildirilmekle beraber bizim çalışmamızda gruplar arasında fark tespit edilememiştir. Beta hücre destrüksiyonunda önemli rolü olduğu düşünülen IL-1 β düzeyi ise, kontrol grubuna göre yeni tanı almış diyabetik hastalarda yükselmeye başlamış ve uzun dönem diyabetik hastalarda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu da Tip I diyabette immün destrüktif mekanizmada, IL-1 β gibi sitokinlerin önemli bir rol oynadığını ortaya koymakta olup, bu yöndeki daha kapsamlı araştırmaların konuya daha fazla ışık tutacağı sonucunu ortaya koymaktadır.

SUMMARY

Diabetes Mellitus is a disease which results from a defect either in secretion or in the activity of insulin. It is a progressive disease and can be life-threatening because of its complications. Insulin Dependent Diabetes Mellitus is the most common endocrine-metabolic disorder in the childhood. A variety of factors are involved in its etiology. Insulin deficiency results in abnormalities not only in carbohydrate metabolism but also in the metabolism of proteins and lipids. The acute complications like ketoacidosis and hypoglycemia and chronic complications, like neuropathy, retinopathy and nephropathy are life threatening and can impact on the quality of life. However, the patients can maintain their life normally with dietary adjustment, insulin treatment and careful follow up. The levels of lymphocyte subsets and IL-1 β were investigated in the patients who were recently diagnosed as having type I DM, those who were followed up with the diagnosis of diabetes mellitus at least for 12 months and healthy controls. The alterations in these parameters and their impact on the progression on DM were investigated.

The following subsets were included in the study; 12 children and adolescents (mean age 8.3 \pm 4.1 year) recently diagnosed as having Type I DM, 28 children and adolescent who had a long term follow up with a diagnosis of Type I DM (mean age 11.0 \pm 4.3 year), 22 healthy children and adolescents (mean age 9.4 \pm 3.8 year). In these groups, CD3 T lymphocyte, CD4 T lymphocyte, CD8 T lymphocyte, CD95 T lymphocyte, CD45RA and CD45RO T lymphocytes and cytoplasmic IL-1 β levels were measured by using the method of Flow Cytometry.

Statistical comparisons regarding the CD3, CD4, CD8, CD95, CD45RA and CD45RO T lymphocyte levels did not reveal a significant difference between the groups ($p > 0.05$). Although cytoplasmic IL-1 β levels were found to be higher in recently diagnosed Type I diabetic patients than in controls, the difference were not statistically significant ($p > 0.05$). However, cytoplasmic IL-1 β levels of the long term diabetic group was significantly higher than the controls ($p = 0.02$).

Although the literature is abundant with conflicting results of lymphocyte subsets in Type I diabetic patients, there was no significant difference between the groups in our study. The cytoplasmic IL-1 β level, which might be important in beta cell destruction, slightly increased in the recently diagnosed patients and that increase become significant in long term diabetic patients when compared to controls. This condition may indicate that cytokines like IL-1 β may be involved in immun destructive mechanism in Type I DM. Future studies are needed for better understanding of this mechanism.

KAYNAKLAR

- 1) Saka N. Diabetes Mellitus. Neyzi O, Ertuğrul T (editörler), Pediatri. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 2002: 1306-1321.
- 2) Sperling MA. Diabetes Mellitus. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (eds). Nelson Textbook of Pediatrics, 16th Edition. Philadelphia, WB Saunders, 2000: 1767-1786.
- 3) Kelnar JHC. Diabetes Mellitus. In: Campbell AGM, McIntosh Neil (eds). Forfar and Arneil's Textbook of Pediatrics, 5th Edition. Churchill Livingstone, 1998: 1072-1082.
- 4) Yordam N, Alikasıfoğlu A. Diabetes Mellitus. Katkı Pediatri Dergisi 1997; 18:17-29
- 5) Charles M, Clarck JR: Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 1999; 22:5-19
- 6) Korkmaz A, Dilber E, Gönç N, Güler E. Çocukluk Çağında Diyabet Epidemiyolojisi. Katkı Pediatri Dergisi 1997; 18:1-3
- 7) Karvonen M, Kajander M, Moltchanova E, Libman I, La Porte R. Incidence of Childhood Type I Diabetes Worldwide. Diabetes Care 2000; 23:1516-1526
- 8) Lernmark A. Type 1 Diabetes. Clin Chem 1999; 45:1331-1338
- 9) Lebovitz HE. Etiology and Pathogenesis of Diabetes Mellitus, Juvenil Diabetes (Symposium on). Pediatr Clin North Am 1984; 31:521-651
- 10)Kandemir N. İnsüline Bağımlı Diabetes Mellitus'un Etyopatogenezi. Katkı Pediatri Dergisi 1997; 18:4-16
- 11)Davies JL, Kavaguchi Y, Benneth SI, Copeman JB, Cordelli HJ, Pritchard LE, et al. A Genome Wide Search for Human Type 1 Diabetes Susceptibility Gene. Nature 1994; 371:130-136
- 12)Atkinson MA, Maclaren NK. The pathogenesis of insülin dependent diabetes mellitus. N Engl J Med 1994; 331:1428-1436.
- 13)Teziç T. Ulusal Diabet Programı Çocuk ve Adolesan Çağı Diyabeti Grubu. Çocukluk ve adolesan çağı diyabeti, Tip 1 Diabetes Mellitus.1997: 1-89.

- 14) Nepom GT. A Unified hypothesis for the complex genetic of HLA Association with IDDM. *Diabetes* 1990; 39:1153-1156
- 15) Sabbah E, Savola K, Ebeling T, Kulmala P, Vahasalo P, Ilonen J, et al. Genetic, Autoimmune, and Clinical Characteristics of Childhood and Adult Onset Type I Diabetes. *Diabetes Care* 2000: 1326-1332
- 16) Sperling MA. Diabetes Mellitus. *Pediatric Endocrinology USA*. 1993; 241-248.
- 17) Plotnick LP. Type 1 Diabetes Mellitus. In: McMillan JA, De Angelis CD, Feigin RD, Warshaw JB (eds). *Oski's Pediatrics*, 3rd Edition. Philadelphia, Kluwer Company. 1999: 1793-1803.
- 18) Forrest JM, Menser MA, Burges JA. High frequency of diabetes mellitus in young adults with congenital rubella. *Lancet* 1971; 2:332-335
- 19) Telmke K, Otten A, Williams W. Islet cell antibodies in children with mumps infection. *Lancet* 1980; 2:211
- 20) Fohlman J, Friman G. Is juvenile diabetes viral disease? *Ann Med* 1993; 25:569-574
- 21) Yılmaz C, Yılmaz T, İmamoğlu Ş. *Diabetes Mellitus 2000*. İstanbul 2000.
- 22) Rossini AA, Appel MC, Williams RM. Genetic influence of the streptozotocin induced insulinitis and hyperglycemia. *Diabetes* 1980; 29:271
- 23) Parving HH, Tarnow L, Nielsen F, Rossing P, et al. Cyclosporine Nephrotoxicity in Type I Diabetic Patients. *Diabetes Care* 1999; 22:478-483
- 24) Surmit RS, Schneider MS. Role of stress in the etiology and treatment of diabetes mellitus. *Psychosom Med* 1993; 55:380-393
- 25) Katz J, Benoist C, Mathis D. Major Histocompatibility Complex Class I Molecules are required for the development of Insulinitis in Non Obese Diabetic Mice. *Eur J Immunol* 1993; 23:3358-3360
- 26) Doyle C, Strominger JL. Interaction between CD4 and Class II MHC molecules mediates cell adhesions. *Nature* 1987; 330:256-259
- 27) Hanninen A, Jalkanen S, Salmi M, Toikannen S, Nikoloros G, Simell O. Macrophages, T Cell Receptor Usage and Endothelial Cell Activation in the Pancreas at the Onset of Insulin Dependent Diabetes Mellitus. *J Clin Invest* 1992; 90:1901-1910

- 28) Bell EB, Sparshott SM. Interconversion of CD45R subsets of CD4 T Cells In-Vivo. *Nature* 1991; 348:163-166
- 29) Mandrup-Poulsen T. The role of Interleukin -1 in the pathogenesis of IDDM. *Diabetologia* 1996; 39:1005-1029
- 30) Menon RK, Sperling MA. Childhood Diabetes. *Med Clin North Am* 1988; 15:65-98
- 31) Schade DS, Eaton RP. The temporal relationship between endogenously secreted stress hormones metabolic decompensation in diabetic man. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 50:131-136
- 32) Büyükdevrim SA. Preklinik dönemin tanısında metabolik ve immünolojik kriterler. *Diyabetolojiye giriş*. Editörler: Büyükdevrim SA, Yılmaz MT, Satman I, Dinççağ N, Karşıdağ K, Altuntaş Y, Fatih Ofset Matbaası, İstanbul. 2. Baskı (1996).
- 33) Maccuish AC, Barnes EW, Irwine WJ, Duncan LJP. Antibodies to Islet Cells in Insulin Dependent Diabetics with Coexisted Autoimmune Disease. *Lancet* 1974; 2:1529-1531
- 34) Yılmaz MT: Diabetes Mellitus'ta Erken Dönem Tanımı, Tanı ve İzleme Kriterleri. *Diyabetolojiye Giriş*. Editörler: Büyükdevrim SA, Yılmaz MT, Satman I, Dinççağ N. Fatih Ofset Matbaası, İstanbul, 1996;160-174.
- 35) Microvascular and acute complications in IDDM patients: the Euorodiab IDDM Complications Study. The Eurodiab IDDM Complications Study Group. *Diabetologia* 1994; 37:278-285
- 36) Bereket A, Yordam N. Tip I Diyabetin Akut Komplikasyonları. *Katkı Pediatri Dergisi* 1997; 18:30-48
- 37) Bello FA, Sotos JF: Cerebral edema in diabetic ketoacidosis in children. *Lancet* 1990; 336:364
- 38) Roger B, Sills I, Cohen M, Seidel G. Diabetic ketoacidosis, neurologic collapse during treatment followed by severe developmental morbidity. *Clin Pediatr* 1990; 29:241-256
- 39) Bilginturan N, Şimşek E. Tip I Diyabetin uzun süreli tedavi ve takibi esnasında görülen problemler. *Katkı Pediatri Dergisi* 1997; 18:69-75
- 40) Bhatia V, Wolsdorf J: Severe hypoglycemia in young with IDDM: Frequency and causative factors. *Pediatrics* 1991; 88:1187-1193

- 41) Greenfield M, Kolterman O, Olefsky J, Reaven GM. Mechanism of hypertriglyceridemia in diabetic patients with fasting hyperglycemia. *Diabetology* 1980; 18:441-446
- 42) Salerno M, Argenziano A, Di Maio S, Gasparini N, Formicola S, De Filippo G, et al. Pubertal Growth, Sexual Maturation and Final Height in Children with IDDM. *Diabetes Care* 1997; 20:721-724
- 43) Gunczler P, Lanes R. Poor Metabolic Control Decreases the Growth Velocity of Diabetic Children. *Diabetes Care* 1996; 22:1012
- 44) Boggetti E, Riva MC, Bonfanti R, Meschi F, Viscardi M, Chiumello G. Growth Changes in Children and Adolescents with Short-term Diabetes. *Diabetes Care* 1998; 21:1226-1229
- 45) Güler E, Korkmaz A, Gönç N, Dilber E. Diyabetin kronik komplikasyonlarının etyopatogenezi; Retinopati, Nöropati. *Katkı Pediatri Dergisi* 1997; 18:92-106
- 46) Aydın M. Diyabetik Nefropati. *Katkı Pediatri Dergisi* 1997; 18:108-113
- 47) Özbal Y. İmmün Sistem. *Temel İmmünoloji*, Nobel Tıp Kitapevi, 2000:11-56.
- 48) Buckley RH. T-B, and NK-Cell Systems. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics*, 16th Edition. Philadelphia, WB Saunders, 2000: 590-596.
- 49) Kılıçturgay K. İmmünolojiye giriş. Bursa, Nobel Kitabevleri, 1994: 13-26.
- 50) Giordano C, Galluzzo A: Fas –mediated apoptosis in human Type 1 diabetes : Its possible role in the destruction of pancreatic B cell. *Diab Nutr Metab* 1997; 10:233-241
- 51) Maricio D, Mandrup-Poulsen T: Apoptosis and the pathogenesis of IDDM. *Diabetes* 1998; 47:1537-1545
- 52) De Maria R, Testi T: Fas-Fas L interactions: A common pathogenetic mechanism in organ specific autoimmunity. *Immunol Today* 1998; 19:121-124

- 53) Clemen LT: Isoforms of the CD45 common leukocyte antigen family: Markers for human T-cell differentiation. *J Clin Immunol* 1992; 12:1-10
- 54) Pulida R, Sanchez-Madrid F. Biochemical nature and topographic localization of epitopes defining four distinct CD45 antigen specificities. *J Immunol* 1989; 143:1930-1936
- 55) Pingel JT, Thomas ML. Evidence that the leucocyte common antigen is required for antigen induced T lymphocyte proliferation. *Cell* 1989; 58:1055-1065
- 56) Özbal Y. Temel İmmünoloji (2.baskı). İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, 2000: 186-193.
- 57) Özbal Y. Temel İmmünoloji (2.baskı). İstanbul, Nobel Tıp Kitapevleri, 2000: 106-121.
- 58) Ivan Roitt. The production of Effectors. In: *Essential Immunology*, 9th Edition, Blackwell Science, 1997: 179-199.
- 59) Abbas AK, Lichtman AH, Poher JS. Cytokines. In: *Cellular and molecular immunology*. WB Saunders Co. Philadelphia, 1994: 240-260.
- 60) Petersen LD, Duinkerken G, Bruining GJ. Increased numbers of in vivo activated T-cells in patients with recent onset Insulin Dependent Diabetes Mellitus. *J Autoimmun* 1996; 9:731-737
- 61) Ilonen J, Surcel HM, Kaar ML. Abnormalities within CD4 and CD8 T subsets in Type I (insulin-dependent) diabetes. *Clin Exp Immunol* 1991; 85:278-281
- 62) Peakman M, Leslie RD, Alviggi L, Hawa M, Vergani D. Persistent activation of CD8+ T - cells characterizes prediabetic twins. *Diabetes Care* 1996; 19:1177-1184
- 63) Kaaba SA, Al-Harbi SA. Abnormal lymphocyte subsets in Kuwaiti patients with Type I IDDM and their first degree relatives. *Immunol Lett* 1995; 47:209-213
- 64) Hehmke B, Michaelis D, Gens E, Laube F, Kohnert KD. Aberrant activation of CD8+ T-cell and CD8+ T-cell subsets in patients with newly diagnosed IDDM. *Diabetes* 1995; 44:1414-1419

- 65) Peakman M, Warnock T, Vats A, McNab GL, Vergani D. Lymphocyte subset abnormalities, autoantibodies and their relationship with HLADR types in children with type I (insulin-dependent) diabetes and their first degree relatives. *Diabetologia* 1994; 37:155-165
- 66) Buschard K, Dejgaard A, Madsbad S, Röpke C. Different percentages of CD8+ lymphocytes in long term Type I diabetics with and without residual beta cell function. *Diabetes* 1989; 12:105-108
- 67) Smerdon AR, Peakman M, Hussain MJ, Alviggi L, Watkins P, David R, et al. Increase in Simultaneous Coexpression of naive and memory lymphocyte markers at diagnosis of IDDM. *Diabetes* 1993; 42:127-133
- 68) Peakman M, Mahalingam M, Leslie D, Vergani D. Co-expression of CD45RA (naive) and CD45RO (memory) T cell markers. *Lancet* 1994; 343:424
- 69) Peakman M, Alviggi L, Hussain M, Leslie D, Vergani D. Increased expression of T cell markers of immunological memory associated with protection from Type I Diabetes. *Diabetes* 1994; 43:712-717
- 70) Giordano C, De Maria R, Stassi G, Todaro M, Richiusa P, Giordano M, et al. Defective expression of the apoptosis-inducing CD95 (Fas/APO-1) molecule on T and B cells in IDDM. *Diabetologia* 1995; 38:1449-1454
- 71) Stassi G, De Maria R, Trucco G, Rudert W, Testi R, Galluzo A, et al. Nitric oxide primes pancreatic beta cells for Fas-mediated destruction in Insulin Dependent Diabetes Mellitus. *Exp Med* 1997; 186:1193-1200
- 72) Stassi G, Todaro M, Richiusa M, De Maria R. Triggering of Fas/Apo-1 (CD95) induced apoptosis in human pancreatic beta cells. *Diabetes* 1996; 45:240
- 73) Chung YH, Jun SH, Kang Y, Hirasawa K, Lee BR, Rooijen NV, et al. Role of Macrophages and Macrophage-derived Cytokines in the pathogenesis of Kilham Rat Virus induced Autoimmune Diabetes in Diabetes-Resistant Bio Breeding rats. *J Immunol* 1997; 159:466-471
- 74) Zhidong L, Peter A, Daniel G. Interaction of Interleukin-1 with islet β -Cells. *Diabetes* 1993; 42:56-65

- 75)Loweth AC, Williams GT, James RFL, Scarpello J, Morgan NG. Human Islets of Langerhans Express Fas Ligand and Undergo Apoptosis in Response to Interleukin-1 β and Fas Ligation. *Diabetes* 1998; 47:727-732
- 76)Eizirik DL, Welsh N, Hellerström C. Predominance of Stimulatory Effects of Interleukin-1 β on Isolated Human pancreatic Islets. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76:399-403
- 77)Rieneck K, Bovin LF, Josefsen K, Buschard K, Svenson M, Bendtzen K. Massive parallel gene expression profiling of RINm5F pancreatic islet beta-cells stimulated with Interleukin-1 β . *APMIS* 2000; 108:855-872
- 78)El-Nawawy A, Soliman T, El-Azzouni O, Abbassy AA, Massoud MN, Marzouk S, et al. Interleukin-1 beta, tumor necrosis factor-alpha, insulin secretion and oral glucose tolerance in non-diabetic siblings of children with IDDM. *Indian J Pediatr* 1998; 65:455-460