

40231

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI NEFROLOJİ
BİLİMDALI

**TİP I DİABETES MELLİTUSLU HASTALARDA
DİABETİK NEFROPATİNİN
HLA-ANTİJENLERİ İLE İLİŞKİSİ**

Uzm.Dr. H.Zeki TONBUL

Yan Dal Uzmanlık Tezi
ERZURUM-1995

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1-2
GENEL BİLGİLER.....	3-30
MATERYAL VE METOD.....	31-37
BULGULAR.....	38-49
TARTIŞMA.....	50-60
SONUÇLAR.....	61-62
ÖZET.....	63-64
KAYNAKLAR.....	65-74
EKLER.....	I-II-III-IV

GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetik nefropati (DN) diabete özgü böbrek hastalığını tanımlamak için kullanılan klinikopatolojik bir terim olup özellikle Tip I diabette ölüm sebeplerinin başında gelmektedir (1-3).

Tip I diabetli hastaların yaklaşık % 35-40 kadarında 15-25 yıllık bir diabet süresinden sonra diyaliz veya renal transplantasyon gerektiren son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) gelişmektedir. Diabetik nefropati batı ülkelerinde % 25-30'luk oranla SDBY'nin en sık nedenidir (3-6).

Tip I diabetli hastaların yaklaşık üçte birinde DN gelişirken diğerlerinde uzun diabet süresine rağmen nefropati gelişmemesinin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Diabetik popülasyon içerisindeki bu farklılık tek başına metabolik regülasyonla izah edilemez. Zira yetersiz kontrole rağmen uzun yıllar sonra bile önemli bir komplikasyon gelişmeyen hastaların yanısıra, mükemmel glisemik kontrole rağmen erkenden şiddetli nefropati gelişen hastalar da vardır. Bu nedenle DN patogenezinde genetik faktörlerin rolü üzerinde durulmaktadır (6-10). Son zamanlarda diabetik renal hastalığın aynı aileler içerisinde birikiminin gösterilmesi ile genetik faktörler daha da önem kazanmıştır (10,11).

Diabetik nefropatiye hassasiyet ya da direnç oluşumunun 6.kromozomun kısa kolu üzerindeki major doku uygunluk kompleksi (MHC) tarafından kodlanan insan lökosit antijenleri (HLA) ile ilişkili olduğu ve HLA-doku tiplemesinin insüline bağımlı diabetes mellitus (IDDM)'da renal hastalık riskini tayinde kullanabileceği bildirilmektedir (7,12,13). Ancak, retinopatinin aksine nefropati ve HLA ilişkisi henüz yeterince araştırılmamıştır. Diabetik nefropati ve HLA arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların çoğu yerleşmiş proteinürisi veya renal yetersizliği bulunan hastalar üzerinde yoğunlaşmıştır (13-15). Bu çalışmaların çoğu uygun kriterlere ve kontrol grubuna sahip değildir (13-16) ve sonuçları da çelişkilidir (7,9,12-14,17,18). Mikroalbuminüri hastalar üzerinde yapılmış ise çok az sayıda çalışma mevcuttur (7,19).

Diabetik nefropatinin genetik determinantlarının hastalığın seyrinde erkenden bilinmesi pratikte çeşitli yararlar sağlayacaktır. Böylece yüksek risk altındaki hastalara

dikkatlerin erken evrede yoğunlaşması mümkün olacaktır. Bu hastalarda nefropatinin en erken indikatörü olan mikroalbuminüri için tarama programları daha dikkatli ve etkili yapılabilir. Ayrıca bu hastalara daha sıkı bir glisemik kontrol sağlanabilir (7,12).

Biz bu çalışmamızda DN patogeneğinde HLA ile ilişkili genetik faktörlerin rolünü araştırmak ve nefropati-HLA ilişkisine açıklık getirmek amacıyla; diabet süresi 10 yıldan fazla olan, hipertansiyonu ve klinik proteinürisi bulunmayan Tip I diabetli 55 hastada HLA-Class I ve Class II antijenlerini tayin ederek, başlangıç dönemde nefropatisi olan (mikroalbuminüri) ve olmayan hastaları HLA antijenlerinin sıklığı yönünden karşılaştırdık.



GENEL BİLGİLER

DİABETİK NEFROPATİ

Diabetes mellitus (DM) insülin salgısının mutlak veya nisbi yetersizliği ya da insülin rezistansı sonucu oluşan ve çok ciddi komplikasyonlara neden olabilen endokrin-metabolik bir hastalıktır (20).

Diabetes mellitus etyolojik ve klinik açıdan heterojen bir grup hiperglisemik bozukluktan ibarettir. En sık görülen 2 major klinik tipi insüline bağımlı diabetes mellitus (IDDM=Tip I diabetes) ve insüline bağımlı olmayan diabetes mellitus (NIDDM=Tip II diabetes)'dur (21).

Diabetes mellitus'lu hastalarda doku ve organlarda biyokimyasal, morfolojik ve fonksiyonel bir takım değişiklikler meydana gelmektedir. Akut komplikasyonlar yaşamı tehdit edecek düzeyde, hatta fatal olabilir. Fakat bugün için asıl sorun uzun sürede oluşan vasküler komplikasyonlardır. Küçük damarlarda görülen diabetik değişiklikler "Diabetik mikroanjyopati" olarak adlandırılmaktadır. Retinopati, nöropati ve nefropati diabetin mikrovasküler komplikasyonları, ateroskleroz ve sekelleri (serebrovasküler olaylar, miyokard infarktüsü, gangrenler) ise makrovasküler komplikasyonları olarak kabul edilmektedir (22). İnsülin ve antibiyotiklerin klinik kullanıma girmesinden sonra koma ve enfeksiyon gibi akut komplikasyonlara bağlı ölüm oranı oldukça azalmış, buna karşılık ömür uzamasına paralel olarak geç komplikasyonlarda artış gözlenmiştir (3,22).

Diabetes mellitus'lu hastalarda uzun dönemde gelişebilen renal komplikasyonlar dört grup altında incelenmektedir (6).

- 1.Diabetik glomerülopati
- 2.Kronik pylonefrit
- 3.Papiller nekroz
- 4.Renovasküler hastalık

Bunlardan en önemlisi yalnızca diabete özgü bir komplikasyon olan diabetik glomerülopati olup, diabetiklerde görülen terminal dönem böbrek hastalığının başlıca

nedenidir. Diabetik mikroanjiopatinin böbreğe spesifik lezyonu olan glomerülopati, nodüler ve diffüz glomeruloskleroz şeklinde görülmektedir (1,23).

Nefropati diabetik hastalar için büyük bir problem teşkil etmekte ve özellikle tip I diabette ölüm sebeplerinin başında gelmektedir. Günümüzde diabet A.B.D.'de terminal dönem böbrek hastalığı nedeniyle tedaviye alınan vakalarda tek başına en sık karşılaşılan nedendir (2).

Tip I diabetli hastaların yaklaşık %35-40 kadarında 20 yıllık bir sürede renal yetersizlik gelişirken, tip II diabetik hastaların ancak %5 kadarında SDBY gelişmektedir. Adult diabetli hastaların çoğu kardiyovasküler nedenlerle kaybedilmektedir. Nefropati konusundaki çalışmalar özellikle Tip I diabet üzerinde yoğunlaşmış ve nefropati çeşitli klinik evrelere ayrılmıştır. Adult diabette ise nefropatinin seyri iyi bilinmemektedir (24-27).

DİABETİK NEFROPATİNİN PATOGENEZİ

Diabetik Nefropatinin patogenezi kesin olarak aydınlatılamamıştır. İnsulin yetersizliği, hiperglisemi ve ona eşlik eden metabolik bozukluklar, hemodinamik değişiklikler ve genetik faktörler suçlanmaktadır (7,10,12,23,28-31).

I. Metabolik Bozukluklar

Genel olarak vasküler komplikasyonların kan glikozunun düzensiz kontrolüne bağlı olarak geliştiği sanılmaktadır. Çünkü bu komplikasyonlar diabeti kontrolsüz olanlarda daha sık görülmektedir (30). Ayrıca insülin tedavisi ile mikroalbuminürinin azalması ve hiperfiltrasyonun düzelmesi, bu komplikasyonların gelişiminden hipergliseminin sorumlu olduğunu desteklemektedir (29). Bununla birlikte kötü kontrollü ve uzun diabet süreli bazı hastalarda hiç bir komplikasyon görülmezken, iyi kontrollü hastalarda bazen birkaç yıl içerisinde retinal ve renal hastalık gelişmesi metabolik anormalliklerin mikrovasküler hastalığın tek sebebi olmadığını düşündürmektedir (32).

Mikroanjiopatik komplikasyonların oluşmasında rol oynadığı kabul edilen metabolik bozukluklar şunlardır (30).

1-Proteinlerin nonenzimatik glikozilasyonu

Normal şartlar altında vücutta proteinlerin glikozilasyonu enzimatik yolla yapılır. Proteinler yüksek glikoz düzeylerine uzun süre maruz kalırsa glikoz nonenzimatik olarak da

protein molekülüne bağlanır. Bu regüle olmayan glikozilasyon proteinin yapısının, dolayısı ile onun fonksiyonunun değişmesine neden olur. Hemoglobin, albumin, lens proteini, fibrin, kollajen ve lipoproteinler bu gruptandır (29,30,33).

Hemoglobinin glikozillenme derecesi hipergliseminin süresi ve derecesine bağlıdır. Normal şahıslarda glikolize hemoglobin (HbA_{1c}) miktarı % 4-8 arasında olduğu halde iyi kontrol edilmeyen diyabetlerde % 8-12'ye çıkmaktadır. Dolayısı ile HbA_{1c}'nin seri ölçümleri diabetik hastada karbonhidrat metabolizması hakkında daha objektif bir değerlendirme imkanı sağlar. HbA_{1c}, eritrositlerin normal yaşam süresi olan 100-120 gün için glukoz konsantrasyonunun iyi bir indeksidir. Glikolize Hb'in oksijene afinitesi normal hemoglobinden daha fazladır. Bu yüzden HbA_{1c}'nin artması doku hipoksisine yol açar (29,33).

Oslo çalışmasında 8 yıl süre ile takip edilen tip I diabetli hastalardan klinik nefropati gelişenlerin hepsinde ortalama HbA_{1c} düzeyinin % 10'dan daha fazla olduğu bildirilmektedir (34). Ayrıca, klinik nefropati gelişiminin intensif insülin tedavisi uygulanan hastalarda konvansiyonel insülin tedavisine göre üçte bir oranında azaldığı belirtilmektedir (35). Diabetik mikrovasküler komplikasyonların sıklığını azaltabilmek için HbA_{1c} düzeyinin % 7-7.5 arasında tutulması önerilmektedir (36).

Kollajen ve diğer bazal membran proteinlerinin aşırı non-enzimatik glikozilasyonu ise glomerül bazal membranında bazı değişikliklere neden olur. Bazal membran (BM) kalınlığı artar ve fonksiyonları bozular. Ayrıca glikolize fibrin, plazmine karşı dirençlidir ve diabetik dokularda yoğun fibrin birikimine katkıda bulunur (29,37).

2-Anormal Polioliol-Miyoinozitol Metabolizması.

a) Polioliol (sorbitol) yolu aktivitesinin artması: Sorbitol, glikozdan fraktoz teşekkülü sırasında meydana gelen bir ara üründür. Glikoz aldoz redüktaz enzimi ile sorbitole çevrilir (30).

Hiperglisemik ortam sorbitol metabolizmasını aktive ederek hücre içinde sorbitol ve fruktoz birikimine neden olur. Sonuçta intrasellüler osmolarite artar ve hücre içine su girer. Sorbitol metabolizmasının sinir dokusu, retina, renal glomerüluslar, kan damarları ve lenste aktivite kazandığı gösterilmiştir. Aldoz redüktaz inhibitörleri kullanılarak mikroangiopatiyi

önlemeye yönelik yeni bir tedavi modeli üzerinde çalışılmaktadır (29,30,37).

b) Miyoinozitol metabolizmasındaki değişiklikler: Miyoinozitol glikozdan elde edilen bir hekzonoldür. Glikoz renal tübüluslardan miyoinozitolün reabsorbsiyonunu kompetitif olarak inhibe ettiğinden diabetiklerin idrarında bol miktarda miyoinozitol atılmaktadır (30).

Diabetik hastalarda retina, renal glomerülüsler ve periferik sinirlerde miyoinozitol konsantrasyonu azalmıştır. Aldoz redüktaz enzim inhibitörleri hücre içi miyoinozitol düzeylerinin azalmasına mani olurlar. Ayrıca yeni diabetik olan hayvanlara miyoinozitol verilmesi renal hiperfiltrasyonu önlemektedir (30).

Poliol ve miyoinozitoldeki değişikliklerin BM lezyonunun gelişimindeki rolü tam olarak bilinmemektedir. Ancak, azalan Na/K-ATP' az aktivitesi veya fosfoinozitid metabolizmasındaki değişikliklerin BM metabolizmasını etkileyebileceği bildirilmektedir (28).

3-Diğer Metabolik Bozukluklar.

a)-Heparan sülfat : Heparan sülfat proteoglikan, ekstrasellüler matriksin negatif yükü ve yapısal stabilitesine katkıda bulunur. DN'de glomerüler BM'ın heparan sülfat proteoglikan konsantrasyonu yaklaşık % 50 oranında azalmıştır (38). Glomerüler BM'ın heparan sülfat (HS) muhtevası ile albuminüri arasında negatif korelasyon bulunduğu gösterilmiştir. Glomerüler BM'ın HS muhtevasındaki azalmanın negatif yük kaybına ve permeabilite artışına neden olarak albuminüriye yol açtığı sanılmaktadır (39).

Ayrıca HS mezenşiyal ekspansiyonu da inhibe etmektedir. Bu nedenle azalmış HS konsantrasyonu ekstrasellüler matrikste artışa yol açabilir. Ekstrasellüler matriks içindeki HS konsantrasyonunun azalması zayıf metabolik kontrol ve genetik faktörlerin birlikte neden olduğu bir durumdur (39).

b)-Artmış platelet agregasyonu ve aglutinasyonu : Hipergliseminin trombosit agregasyon ve aglutinasyonunu artırdığı (33) ve antiagregan ilaçların diabetik vasküler komplikasyonların gelişimini azaltacağı bildirilmektedir (40).

II. Hemodinamik Değişiklikler

DN'nin oluşumunda hemodinamik faktörlerin de rolü olduğu kabul edilmektedir. DM'da doku zedelenmesinin nedenlerinden birinin de artmış kan akımı olduğu

bildirilmektedir. Kan akımının artışı ise arterioller direncin azalmasına bağlanmaktadır. Kapiler yatakta artan hidrostatik basınç, hasarlanmış protein ve diğer makromoleküllerin damar duvarına ve mesangioma filtrasyonunu artırır. Kapiller sızıntısının mesangium ve BM komponentlerinin sentezini stimüle ettiği düşünülmektedir (29,31).

Tip I diabetde renal kan akımında artışa yol açan preglomerüler vazodilatasyonun nedeni tam olarak bilinmemektedir. Metabolik veya hormonal faktörler sorumlu olabilir (31). Doku hipoksisini önlemek için perfüzyon ve filtrasyonun arttığı, bunun da mikroanjiopatiye neden olduğu öne sürülmektedir. İntraglomerüler basınçtaki artışın makromoleküler sızıntıya, BM'da kalınlaşmaya ve mezenşial matrikste artışa neden olduğu bildirilmektedir (31).

Diabetik hayvanlarda renal arter stenozu olan böbrekte nefropati, carotis arter stenozu olan tarafta ise retinopati gelişmediği gösterilmiştir. Bu da, hemodinamik faktörlerin DN gelişiminde önemli olduğunu göstermektedir (31).

III-İmmünogenetik Faktörler

Tip I diabetik hastaların sadece üçte birinde aşikar klinik nefropati gelişmesi ve uzun diabet süresine rağmen büyük bir kısmında klinik nefropati gelişmemesi patogeneizde hipergliseminin sorumlu tek faktör olmadığını ve genetik faktörlerin de rol oynadığını düşündürmektedir (6-10).

Genetik faktörler diabetik mikroanjiopatik komplikasyonların gelişimini kolaylaştırabilir veya inhibe edebilir. Genetik olarak yüksek hassasiyet, mükemmel glisemik kontrole rağmen erkenden şiddetli DN gelişen vakaları; düşük hassasiyet ise yetersiz kontrole rağmen önemli bir komplikasyon gelişmeyen hastaları izah edebilir. Ancak kişisel hassasiyet ve koruyucu durumun tabiatı tam olarak bilinmemektedir. Son zamanlarda diabetik renal hastalığın aynı aileler içerisinde birikiminin gösterilmesi ile genetik faktörler daha da önem kazanmıştır (10,11).

Ayrıca soygeçmişte hipertansiyon bulunması ile nefropati gelişmesi arasında ilişki olduğu tesbit edilmiştir. Bu durum tip I diabette nefropati gelişiminin hipertansiyona genetik bir yatkınlıkla ilişkili olabileceğini göstermektedir (41,42).

Diabetik nefropatiye hassasiyet ya da direnç oluşumunun HLA-sistemi ile ilişkili olduğu ve HLA doku tiplerinin tip I diabetli hastalarda renal hastalık riskini tayinde

kullanılabileceği bildirilmektedir (7,12,13). Ancak nefropati ve HLA ilişkisi konusundaki çalışmaların sonuçları çelişkilidir (7,9,12-14,17,18).

Diabetik mikrovasküler komplikasyonların patogeneğinde immünolojik faktörlerin rol oynadığını öne süren çalışmaların yanısıra (7,12,13), bu komplikasyonların immünolojik mekanizmalarla oluşmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (9,14,17,18).

DIABETİK NEFROPATİNİN HİSTOPATOLOJİSİ

Diabetik nefropati nodüler ve diffüz glomerüloskleroz şeklinde kendini gösteren bir mikroanjiopati şeklidir (43). Diabetik hastalarda başlıca 3 çeşit glomerüler lezyon tanımlanmıştır (30).

1-Diffüz glomerüloskleroz

2-Nodüler glomerüloskleroz

3-Eksüdatif lezyon

Diabetik glomerüloskerozda bu oluşumların tümü, biri veya birkaçı birarada olabilir. Ağır glomerüler lezyonlara rağmen böbrekler normal hacimde veya büyümüştür (43,44).

Diabetin başlangıcından 15-20 yıl sonra diffüz ve nodüler lezyonlar hastaların hepsinde görülür. Glomerüler BM'da kalınlaşma ve mesangiumda BM'a benzer madde birikimi vardır. Afferent ve efferent arteriollerde hiyalinozis, peritübüler glikojen, yağ ve mukopolisakarit birikimi görülebilir. Nodüller ise glomerülün periferinde, yuvarlak, PAS pozitif hiyalen oluşumlardır ve daha seyrek görülür (30).

Diabetik glomerüloskerozun histolojik bulgularına sahip hastaların yarısından daha azında persistan proteinüri gelişmektedir. Bu yüzden DN'nin erken tanısı için renal biopsinin pratik olmadığı ve özellikle Tip I diabette mikroalbuminüri tayini kadar değerli olmadığı bildirilmektedir. Atipik seyir veya ikili patoloji düşünülmedikçe renal biyopsiye gerek yoktur. DN'nin atipik seyri ise şu şekilde tarif edilmektedir (3,45,46).

1-6-8 yıldan daha az IDDM hikayesi yanında klinik proteinürinin bulunması,

2-Retinopati olmaksızın nefropati olması,

3-Renal fonksiyonların süratle bozulması

4-Evvelinde proteinüri olmaksızın renal fonksiyonların bozulması.

DİABETİK NEFROPATİNİN DOĞAL SEYRİ VE KLİNİK EVRELERİ

Erken morfolojik ve fonksiyonel değişikliklerin tesbit edilmesi ve mikroalbuminürinin önemi anlaşıldıktan sonra Mogensen ve arkadaşları Tip I diabette nefropatinin seyrini birbirini izleyen 5 evrede incelemektedirler (3,23,27,47,48).

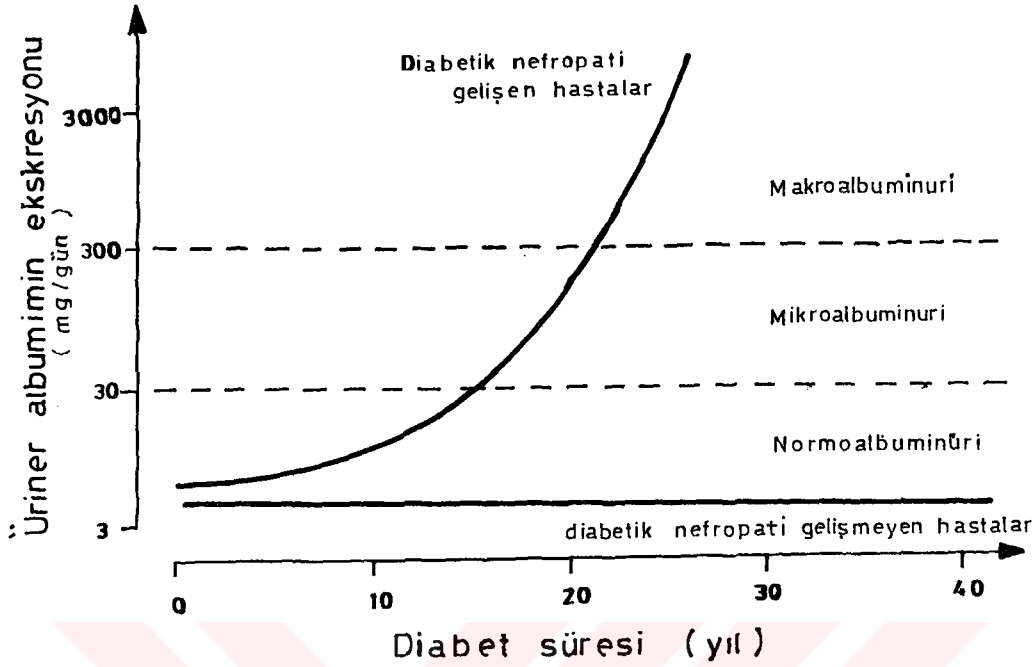
Evre I (Erken renal hipertrofi ve hiperfonksiyon evresi) : Tip I diabet vakalarında teşhis sırasında hemen bütün hastalarda böbrekler büyümüş ve glomerüler filtrasyon hızı (GFR) artmıştır. Bu morfolojik ve fonksiyonel değişiklikler hipergliseminin kontrolü ile düzelmektedir (47-49).

Hiperfiltrasyonun nedeni glomerüler kapiller basıncın artmasıdır. Hiperfiltrasyonun DN'nin başlaması ve ilerlemesinde anahtar rol oynadığı ileri sürülmektedir (3,50). GFR ve filtrasyon fraksiyonu yaklaşık % 20-40 kadar artar. BM ve mesangium ise normaldir. Bu evrede radyolojik olmak böbrek dokusunun genişlediği gösterilebilir (30,49).

Evre II (Klinik belirtilerin eşlik etmediği böbrek lezyonları) : Üriner albumin ekskresyonu (UAE)'nin normal olduğu sessiz dönemdir. Histopatolojik olarak BM'da kalınlaşma ve mezengial genişleme vardır. Bir sonraki evreye vakaların ancak % 35-40'ı ilerler (47).

Evre III (Başlangıç diabetik nefropati): Mikroalbuminüri ile karakterizedir. UAE'daki standart klinik testlerle tesbit edilemeyen subklinik artışlara mikroalbuminüri denilmektedir (27,45). UAE'nun 30-300 mg/gün (yada 20-200 µg/dk) arasında bulunması mikroalbuminüri olarak kabul edilmektedir. 6 ay içerisinde ayrı ayrı zamanlarda alınmış 3 idrar örneğinin 2'sinde mikroalbuminüri varsa, hasta bu evrede kabul edilir (27,40). Tip I diabetli hastalarda UAE'nun diabet süresi ile ilişkisi şekil 1'de görülmektedir (4).

UAE'nu tayinden önce mümkün olan en iyi diabet kontrolü sağlanmalı, idrar steril olmalı ve nonketotik durumda alınmalıdır. Özellikle diabet yaşı 6 yıldan kısa ise artan UAE'nun diğer sebepleri ekarte edilmelidir (3,27,30,49). Fiziksel eksersizler, üriner enfeksiyon, konjestif kalp yetmezliği ve hipertansiyon gibi durumlar da mikroalbuminüriye neden olabilirse de diabetik bir hastada mikroalbuminürinin en önemli nedeni "Başlangıç Diabetik Nefropati"dir (2,3,27,49).



Şekil 1 : Tip I diabetli hastalarda UAE'nun diabet süresi ile ilişkisi.

Normal albumin ekskresyonu ile klinik proteinüri arası geçiş fazını oluşturan bu evre yaklaşık 5-10 yıl devam eder ve diabetin başlangıcından 10-15 yıl sonra bütün hastaların % 30-40'ında görülür. Bu dönemde hafif kan basıncı yüksekliğinin de bulunabilir. Böbreklere değişik derecelerde histolojik lezyonlar vardır.(2,3,27).

Son 10 yıldaki çeşitli çalışmalarda Tip I diabette mikroalbuminürinin klinik nefropati gelişeceğinin kuvvetli bir habercisi olduğu gösterilmiştir (26,27,45,51-54). Mikroalbuminürisi olmayan kişilerde gelecek 10 yıl içerisinde persistan proteinüri gelişme riski çok düşükken, mikroalbuminürisi olan Tip I diabetiklerin % 80'inde klinik nefropati geliştiği gözlenmiştir (3,27).

Proteinüri için standart klinik testler UAE'da ancak 20 misli bir artış olduğunda pozitifleşmektedir. Radioimmünoassay veya immüno kimyasal yöntemlerle albustik negatif iken klinik DN gelişimini önceden tesbit etmek mümkün olmaktadır (27,30).

UAE postür ve eksersizle değişebileceğinden idrar örneklerinin standart şartlar altında toplanması gerekmektedir. Geceki idrar örneklerinde UAE düşük, gündüzki örneklerde ise daha yüksektir. Birkaç saatlik idrar örnekleri, sabah alınan idrar örnekleri ve 12 saatlik örnekler kullanılabilirse de en ideal olanı 24 saatlik örneklerin kullanılmasıdır (2,3,30).

Diabetik nefropatiyi mikroalbuminürinin bulunduğu bu gizli evrede yakalamak önemlidir. Bunun için Tip-I diabetli hastalarda yıllık mikroalbuminüri taramaları önerilmektedir. Zira düzenli metabolik kontrol ve antihipertansif tedavinin mikroalbuminüriyi azalttığı ve nefropati progresyonunu yavaşlattığı gösterilmiştir (3,4,30,31,55-61).

Evre IV (Klinik diabetik nefropati) : Proteinüri, hipertansiyon ve müteakiben GFR'da düşme ile karakterizedir. UAE 300 mg/gün'den fazladır (makroalbuminüri). GFR tedavi edilmeyenlerde yaklaşık 1 ml/dk/ay düşme gösterir. Proteinüri tedricen artarak nefrotik sendrom tablosu yerleşir, böbreklerde ise klasik morfolojik lezyonlar mevcuttur (3,49).

Erken fazda GFR 130-70 ml/dk, ara fazda 70-30 ml/dk, ilerlemiş fazda ise 30-10 ml/dk'ya düşmektedir (27,30). Vakaların çoğunda belirgin retinopati ve hipertansiyon mevcuttur. Antihipertansif tedavi proteinüriyi azaltmakta ve renal yetersizliğe gidişi yavaşlatmaktadır. Metabolik kontrolün ise, bu evrede nefropatinin seyri üzerine etkisi olmamaktadır (31).

Tip I diabette persistan proteinüri (0.5 g/günden fazla total protein ekskresyonu) bir kez geliştikten sonra GFR yılda ortalama 10 ml/dk kadar azalmaya devam eder, kan basıncı ise yükselmeyi sürdürür. 10 yıl içerisinde vakaların en az % 75'inde SDBY gelişmektedir (58).

Evre V (Son dönem böbrek yetmezliği): Glomerüllerde yaygın harabiyet vardır. GFR 10 ml/dk'nın altındadır. Klinik olarak üreminin diğer nedenlerinden ayırt edilemez. Albuminüri azalmıştır. Hipertansiyon ise daima vardır (30,49).

DIABETİK NEFROPATİNİN TEDAVİSİ

Diabetik nefropatinin spesifik bir tedaviyi yoktur. Hasta ile sıkı bir işbirliği ve diabet eğitiminin tedavide önemi büyüktür. Hastalar düzenli aralıklarla kontrol edilmeli ve komplikasyonlar yönünden değerlendirilmelidir.

Diabetes mellitus tanısı konan bir hastada geç komplikasyonları önlemeye yönelik olarak; optimal glisemik kontrol (HbA1c düzeyleri <8%) ve kan basıncının regülasyonu sağlanmalıdır. Uygun diyet ve eksersiz ile hastalar ideal vücut ağırlığında tutulmalı, hastaların sigara kullanımı ve aşırı protein alımı engellenmelidir. Ayrıca tekrarlayan enfeksiyonlarda uygun antibiyotikler kullanılmalı ve gereksiz kontrastlı filmlerden kaçınılmalıdır (62).

Kan şekerinin regülasyonu : Yetersiz metabolik kontrolün DN gelişimi için aşikar bir risk faktörü olduğu gösterildiğinden mümkün olduğunca normale yakın kan glikoz

düzeyleri sağlanmalıdır (30). Pompa tedavisi ile sıkı metabolik kontrolün mikroalbuminüriyi azalttığı, hiperfiltrasyonu düzelttiği gösterilmiştir. Klinik nefropati yerleştikten sonra ise metabolik kontrolün albuminüri ve nefropati progresyonu üzerine etkisiz olduğu bildirilmektedir (36,55,56,63,64).

Klinik nefropati gelişiminin intensif insülin tedavisi uygulanan hastalarda, konvansiyonel insülin tedavisine göre üçte bir oranında azaldığı bildirilmektedir (35). GFR azaldıkça insülin ihtiyacının da azalacağı unutulmamalıdır (49).

Antihipertansif tedavi : Hipertansiyon ile diabetik böbrek hastalığının ilerlemesi arasında yakın bir ilişki vardır. Bu nedenle erken ve etkin bir antihipertansif tedavi gerekir. Antihipertansif tedavinin mikroalbuminüriyi önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Klinik DN vakalarında da hipertansiyonun düzeltilmesi proteinüriyi azaltmakta ve GFR'daki azalmayı % 50-60 oranında yavaşlatmaktadır. Kan basıncının 160/85 mmHg'nın altında tutulması gerektiği bildirilmektedir (59,65-67).

Antihipertansif olarak ACE inhibitörlerinin kullanılması önerilmektedir. Çünkü bu ilaçlar glomerül içi basıncı spesifik olarak düşürerek proteinüriyi azaltmakta ve nefropati progresyonunu yavaşlatmaktadır. Glikoz kontrolü ve lipid profilini ise olumsuz yönde etkilememektedir (48,68-70).

Proteinden kısıtlı diyet : Düşük proteinli diyetin glomerüler lezyonlar üzerine koruyucu etkisi uzun zamandan beri bilinmektedir. Protein alımının azaltılması aşikar ve gizli DN'si olan hastalarda albuminüri ve renal fonksiyonlarda düzelmeye yol açmakta, en azından progresyonu engellemektedir (3,71).

Günde 0.8 g/kg proteinli diyetin DN'li hastalarda renal fonksiyonlar üzerine yararlı etkisi vardır ve nefropati ilerledikçe seçilmiş hastalarda esansiyel aminoasit preparatları ile birlikte daha sıkı bir kısıtlama yararlı olabilir (71).

Son dönem böbrek hastalığının tedavisi : Üremik diabetik hastalarda diyaliz veya renal transplantasyon gerekir. Diabetik hastalarda renal replasman tedavisine nondiabetiklerden daha erken başlanması önerilir. Serum kreatinin seviyeleri yaklaşık olarak 7-9 mg/dl civarında iken diyalize başlanması önerilmektedir (3).

Genel olarak diyaliz yapılan diabetiklerde mortalite nondiabetiklere göre daha fazladır.

Özellikle kardiyovasküler komplikasyonları olanlarda hemodiyalize alternatif olarak CAPD önerilmektedir. CAPD uygulaması beslenme, glikoz kontrolü ve kardiyovasküler problemler açısından hemodiyalize oranla daha üstündür. Bununla birlikte yüksek peritonit insidansı önemli bir problemdir (1,2,72).

Renal transplantasyon, erken rehabilitasyon, yaşam süre ve kalitesinde iyileşme, retinopati ve nöropatinin stabilizasyonu veya gerilemesi, hastanede yatış süre ve sıklığında azalma gibi yararlar sağlamanın yanı sıra; steroid kullanımı nedeniyle sık enfeksiyon ve transplante böbrekte tekrar glomerüloskleroz oluşumu gibi olumsuzlukları da birlikte taşır. Kardiyovasküler açıdan stabil olmayan hastalara renal transplantasyon önerilmemelidir. Canlı donör transplantasyonunda prognoz kadavra transplantasyonuna göre daha iyidir (73).

Son yıllarda kombine böbrek ve pankreas transplantasyonu üzerinde çalışılmakta ve yüz güldürücü sonuçlar alınmaktadır. Başarılı bir pankreatik ve renal transplantasyon hem üremi, hem de diabetik sendromu tedavi edecektir. (74,75).

HUMAN LEUKOCYTE ANTIGEN (HLA) SİSTEMİ

Lökosit antijenleri ilk defa 1958 yılında Dausset tarafından tanımlanmıştır. Multipar kadınların ve çok sayıda transfüzyon yapılan hastaların serumlarında bazı insanların lökositlerini aglutine eden antikolar tespit edilmiş ve bu antikoların polimorfik genetik bir lokusun ürünü olan alloantijenlere karşı oluştuğu anlaşılmıştır (76).

Bu antijenler ilk defa lökositlerde gösterildiğinden insan lökosit antijenleri (HLA) ismi verilmiş ancak daha sonra yapılan çalışmalarda HLA antijenlerinin sadece lökositlerde değil, olgun eritrositler hariç hemen bütün doku hücre yüzeylerinde bulunduğu ve glikoprotein yapısında olduğu tespit edilmiştir (76,77).

Daha sonra yapılan çalışmalarda HLA antijenlerinin sentezinin 6. kromozomun kısa kolu üzerinde bulunan ve major histokompatibilite kompleksi (MHC) adı verilen bölgedeki genler tarafından kodlandığı ve denetlendiği anlaşılmıştır (77).

Transplante edilen bir dokunun tutması ya da reddi alıcı ile verici arasındaki doku antijenlerinin uyum olup olmamasına bağlıdır. Bu antijenler başarılı bir transplantasyon için major engeli oluştururlar. Son yıllarda, HLA sisteminin immün cevabın regülasyonundaki rolünün anlaşılması ve bazı hastalıklarda belirli HLA antijenlerinin daha sık görüldüğünün

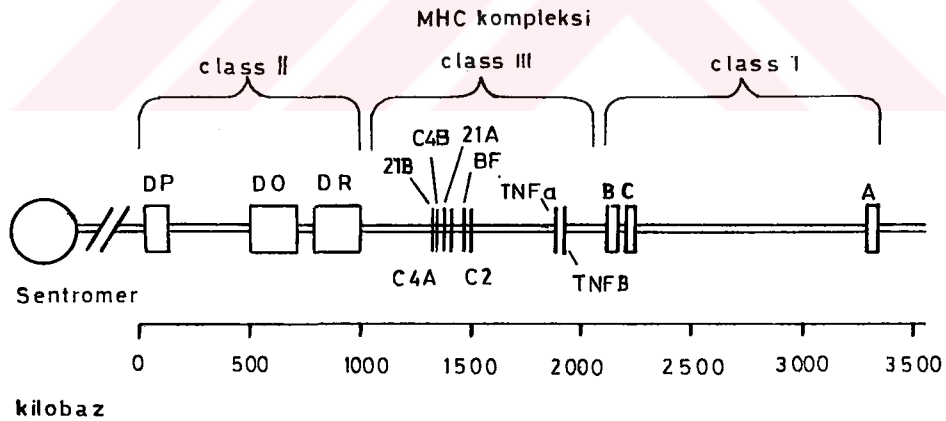
tesbit edilmesi ile HLA sistemi daha da önem kazanmıştır (77).

Major doku uygunluk antijenleri veya transplantasyon antijenleri de denilen HLA sistemi üzerindeki uluslararası çalışmalar 1962 yılında başlamış ve günümüze kadar hem bu antijenlerin yapısı ve fonksiyonu, hem de bunları tayin için kullanılan yöntemler konusunda büyük gelişmeler olmuştur. Dünya Sağlık Örgütüne bağlı uluslararası bir komite (HLA-Nomenclature Committee) her 2-3 yılda bir toplanarak gelişmeleri değerlendirmekte ve HLA kompleksinin terminolojisi üzerinde çalışmaktadır (76-80).

MAJOR HİSTOKOMPATİBİLİTE KOMPLEKSİ (MHC)

HLA antijenlerinin sentezini denetleyen genlerin yer aldığı lokusların bulunduğu kromozom bölgesine MHC denir. İnsanda HLA antijenlerinin sentezi 6.kromozomun kısa koluna yerleşmiş en az 4 lokus tarafından yönetilir. Bu lokuslar A,B,C, ve D harfleri ile belirtilir (76-80).

Şekil 2'de insandaki 6 nolu kromozomun MHC bölgesi, buradaki 4 lokusun yerleri ve birbirine olan uzaklıkları şematik olarak görülmektedir. Bu genlerin lokalizasyonları moleküler biyolojik tekniklerle belirlenmiştir (77).



21A: 21hidroksilaz A, 21 B : 21-hidroksilaz B, BF : Properdin Faktör, C2,C4A ve C4B : kompleman komponentleri TNF α ve TNF β : Tümör Nekrofizan faktör α ve β .

Şekil 2 : HLA Kompleksi.

D lokusunda 3 subgrup (DP,DQ,DR) bulunmaktadır.A,B ve C lokuslarının ürünleri Sınıf I HLA antijenleri (class I), D lokusunun ürünleri ise Sınıf II HLA antijenleri (class II) olarak isimlendirilmektedir. Bu antijenlerin moleküler yapıları birbirine çok benzer ancak doku dağılımları ve fonksiyonları farklıdır (46,80-85, 113) (76-83).

Son yıllarda kişinin belirli bir antijene karşı iyi yada kötü immün cevap verebilme yeteneğinin de genler tarafından belirlendiği anlaşılmıştır. İmmün cevap (Ir) genleri denilen bu genlerin enfeksiyöz, neoplastik ve otoimmün hastalıklara karşı kişinin duyarlı ya da dirençli olmasında rol oynadıkları ve MHC içinde yer aldıkları tahmin edilmektedir (86).

Ayrıca komplemanın bazı komponentlerini denetleyen genler ile TNF- α ve TNF- β gibi sitokinlere ait genlerin de MHC içinde yer aldıkları gösterilmiştir. Bu genlerin ürünleri (Sınıf 3 antijenler) transplantasyon antijenleri şeklinde rol oynamazlar (77,81).

HLA sistemi bugün için insanda bilinen en polimorfik genetik sistemdir. Her bir lokus için bir dizi allel gen bulunur. Bu aleller numaralandırılmıştır (örneğin HLA-A1, HLA-B8 gibi). Uluslararası çalışma grupları tarafından henüz bir numara verilmemiş aleller için (workshop) ön takısı kullanılır (örneğin HLA-Dw2). HLA sistemi son derece polimorfik bir sistemdir ve bilinen her bir lokusta çok sayıda allel mevcuttur. Örneğin HLA-A lokusunda en az 24, HLA-B lokusunda ise en az 50 farklı allel vardır. HLA-Dw ve DR'lerin bazıları analog, bazıları ise analog değildir. Örneğin Dw1 ile DR1 analog iken, Dw4 ile DR4 aynı şeyi temsil etmemektedir (77). HLA sisteminde bugün için bilinen antijenler tablo I'de görülmektedir (77).

Genel (public) ve Özel (private) HLA Antijenleri

Tek bir molekül üzerinde bulunan ve diğer moleküllerde bulunmayan HLA-antijenleri özel antijenler olarak isimlendirilmektedir. Buna karşılık çeşitli HLA moleküllerinde ortak olarak bulunan determinantlara ise genel antijen denilmektedir. HLA-Bw4 ve Bw6 genel antijenlerin en iyi bilinen örnekleridir ve bunlardan biri HLA-B alelleri ile belirlenen her molekül üzerinde bulunur. Özel HLA-B antijenlerini taşıyan moleküller üzerindeki HLA-Bw4 ve Bw6 public antijenlerinin dağılımı ve HLA-DRw52 ve DRw53 ile birlikte bulunan DR antijenleri tablo II'da görülmektedir (77)

Başlangıçta özel (özümlü) antijen olarak düşünülen bazı HLA antijenlerinin daha sonra daha dar özgülüğe sahip olan 2 veya 3 subgrubu bulunmuştur. Bunlar başlangıçta özel antijen olduğu sanılan orjinal antijenin splitleridir ve asıl özgül antijenler bu splitler olup orjinal antijen bu splitler için ortak genel bir antijendir. Örneğin A25 ve A26, A10'un splitleridir ve A10 özgül A25 ve A26 molekülleri üzerinde ortak bulunan genel bir antijen olarak düşünülmekte ve parantez içinde gösterilmektedir. Tablo I'de genel antijenler (parentez içinde) ve splitleri (özümlü antijenler) görülmektedir (77)

.Tablo I : Bilinen HLA antijenlerinin listesi (77)

A	B	C	D	DR	DQ	DP
A1	B5	B51(5)	Cw1	Dw1	DR1	DPw1
A2	B7	Bw52(5)	Cw2	Dw2	DR2	DPw2
A3	B8	Bw53	Cw3	Dw3	DR3	DPw3
A9	B12	Bw54(w22)	Cw4	Dw4	DR4	DPw4
A10	B13	Bw55(w22)	Cw5	Dw5	DR5	DPw5
A11	B14	Bw56(w22)	Cw6	Dw6	DRw6	DPw6
Aw19	B15	Bw57(17)	Cw7	Dw7	DR7	DPw7
A23(9)	B16	Bw58(17)	Cw8	Dw8	DRw8	DPw8
A24(9)	B17	Bw59	Cw9(w3)	Dw9	DR9	DPw9
A25(10)	B18	Bw60(40)	Cw10(w3)	Dw10	DRw10	
A28	B21	Bw61(40)	Cw11	Dw11(w7)	DRw11(5)	
A29(w19)	Bw22	Bw62(15)		Dw12	DRw12(5)	
A30(w19)	B27	Bw63(15)		Dw13	DRw13(w6)	
A31(w19)	B35	Bw64(14)		Dw14	DRw14(w6)	
A32(w19)	B37	Bw65(14)		Dw15	DRw15(2)	
Aw33(w19)	B38(16)	Bw67		Dw16	DRw16(2)	
Aw34(10)	B39(16)	Bw71(w70)		Dw17(w7)	DRw17(3)	
Aw36	B40	Bw70		Dw18(w6)	DRw18(3)	
Aw43	Bw41	Bw72(w70)		Dw19(w6)		
Aw66(10)	Bw42	Bw73		Dw20	DRw52	
Aw68(28)	B44(12)	Bw75(15)		Dw21	DRw53	
Aw69(28)	B45(12)	Bw76(15)		Dw22		
Aw74(w19)	Bw46	Bw77(15)		Dw23		
	Bw47			Dw24		
	Bw48	Bw4		Dw25		
	B49(21)	Bw6		Dw26		
	Bw50(21)					

Ayrıca aynı lokus içinde bulunan antijenler arasında serolojik olarak çapraz reaksiyonlar görülebilir. Bu durum ortak antijenik determinantların varlığı ile izah edilmektedir. Bu şekilde cross-reaksiyon grupları (CREG) mevcuttur. Örneğin A3 antijenine karşı oluşmuş anti serumlar A11 ve A1 antijenleri ile de reaksiyonlar verebilir (80-85). Bazı HLA cross-reaksiyon grupları ve grup elemanları tablo III'de görülmektedir (77).

Tablo II : Genel ve Özel HLA-Antijenleri (77).**Bw4**

B5,B13, B17, B27, B37, B38 (16),B44 (12)
 Bw47, B49(21), B51 (5),Bw52 (5), Bw53,
 Bw57(17), Bw58 (17), Bw59, Bw63 (15), Bw77 (15)

Bw6

B7, B8, B14, B18,Bw22, B35, B39 (16), B40, Bw41,
 Bw42, B45(12), Bw46, Bw48, Bw50 (21), Bw54 (w22),
 Bw55 (w22), Bw56 (w22), Bw60 (40), Bw61 (40), Bw62(15),
 Bw64 (14), Bw65 (14), Bw67, Bw70, Bw71 (w70),
 Bw72 (w70), Bw73, Bw75 (15), Bw76 (15).

DRw52

DR3,DR5,DRw6, DRw8, DRw11 (5),DRw12 (5),
 DRw13 (w6), DRw14 (w6), DRw17 (3), DRw18 (3)

DRw53

DR4,DR7,DR9

Tablo III : Bazı HLA Cross Reaksiyon Grupları (CREG) ve Grup üyeleri

HLA CREG	CREG Üyeleri
A1-CREG	A1,A3,Aw36
A2-CREG	A2,A28
B5-CREG	Bw51 (5), Bw52(5), Bw62(15), Bw63 (15), B18, Bw35
B7-CREG	B7,B27,Bw54 (w22),Bw55 (w22), Bw56 (w22), Bw60(40), Bw61(40) Bw42
B15-CREG	Bw62 (15), Bw63 (15), Bw57 (17), Bw58 (17)

HLA KALITIMI

HLA genleri tıpkı ABO eritrosit sisteminde olduğu gibi kodominan olarak geçer. Histokompatibilite genleri birbirleriyle sıkı bağlantı gösterir. Bu nedenle geçişleri kalıp halinde olur. Bu kalıp genlere haplotip adı verilmektedir. Çocuk bir haplotipini anneden, bir haplotipini de babadan alır. Bu nedenle anne veya baba ile çocuklar arasında mutlaka 1 haplotip uyumu vardır (76,78,79,81-83).

Herbir haplotipde birer A,B,C ve D alleli vardır. Haplotip nesiller arasında bir paket olarak aktarılır. 2 haplotip bireyin genotipini oluşturur. Mendel yasalarına göre doğacak çocuklar 4 ayrı haplotip kombinasyonundan birini gösterecektir (77). Kardeşlerin % 25'inde her iki haplotip de aynıdır, yani tam bir doku uygunluğu vardır (HLA-özdeş) % 50'sinde bir haplotip uyumu vardır (haploidantik).Kardeşlerin % 25'inde ise haplotipler hiç benzemez (49,80,84). (76,77,82).

HLA-lokuslarının sayısı ve bu lokuslardaki aşırı allel sayısı göz önüne alındığında akraba olmayan iki bireyin HLA özdeş bulunmasının nedenli nadir bir durumu olacağı anlaşılmaktadır (82).

Nesiller arasında haplotip aktarımı sırasında nadiren lokuslar arasında crossing-over görülebilir. Bu şekilde yeni bir haplotip ortaya çıkabilir. Bu ihtimal A ve B lokusları arasında % 0.8, B ve D lokusları arasında ise % 1'dir. B ve C lokusları birbirine çok yakın olduğundan bu iki lokus arasında crossing-over ihtimali çok nadirdir (78).

Bağlantı Dengesizliği (Linkage disequilibrium):

Bir populasyonda yakın bağlantılı lokuslardaki bazı alleller aynı haplotipte şans sonucu beklenenden daha sık olarak birlikte bulunmaktadır. Bu durum bağlantı dengesizliği olarak bilinmekte ve gözlenen ve beklenen sıklıklar arasındaki fark ($\Delta = \Delta$) olarak hesaplanmaktadır. Örneğin kuzey Amerikadaki beyaz popülasyon arasında HLA-B8 sıklığı 0.09, HLA-DR3 sıklığı ise 0.12'dir. HLA B8 ve DR3'ün aynı haplotip içinde birlikte bulunmasının beklenen sıklığı $0.09 \times 0.12 = 0.01$ 'dir. Ancak bu haplotip beklenenden 7 misli fazla olarak 0.07 sıklıkta görülmektedir. Böylece Δ değeri $= 0.07 - 0.01 = 0.06$ olacaktır (77).

HLA antijenleri ile hastalıklar arasındaki gerçek ilişkilerin belirlenmesinde bağlantı dengesizliği önem taşır. Bu nedenle göz önünde bulundurulmalıdır. Örneğin başlangıçta Multiple skleroz HLA-B7 ile ilişkili bulunmuştur. Ancak daha sonra bu hastalığın HLA-DR1 ile ilişkisinin daha kuvvetli olduğu ve B7'nin dengesiz bağlantı sonucu DR2'ye takılmış bulunduğu anlaşılmıştır. DR2 de henüz bilinmeyen asıl suçlu allel'in bir sıkı başlığı olabilir. Bağlantı dengesizliği biyolojik avantajı olan gen kombinezonlarının doğal seçimle sıklık kazanması ile izah edilmektedir (76,80). Kafkas ırkında görülen bağlantı dengesizliği örnekleri tablo IV'de görülmektedir (77).

Tablo IV : Bağlantı dengesizliği örnekleri (Kafkas ırkı)

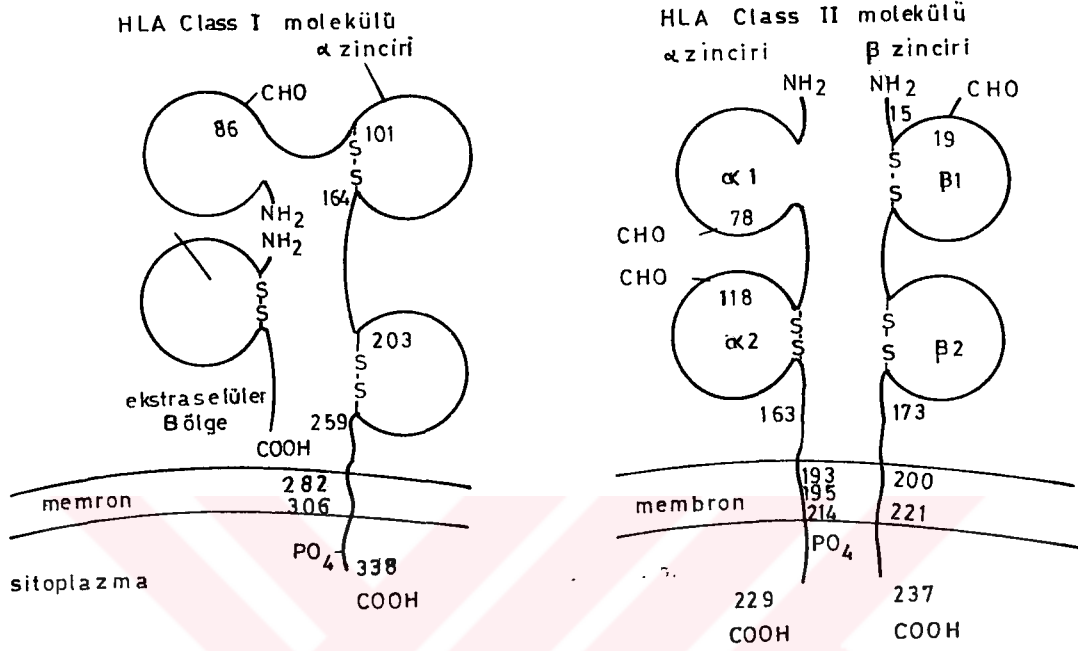
Haplotipler	Δ ($\times 10^3$)
HLA-A1, B8	53.2
HLA-A2, B4	14.8
HLA-B27, Cw1	9
HLA-B27, Cw2	19.9
HLA-B7, DR2	36.8
HLA-B8, DR3	61.3
HLA-DR2-DQw1	93.6
HLA-DR3, DQw2	37.4
HLA-DR4, DQw3	87.5

HLA ANTİJENLERİNİN YAPISI, FONKSİYONLARI VE DOKU DAĞILIMI

HLA antijenleri glikoprotein yapısında 2 polipeptid zincirinden oluşmuştur. Hücre dışı, hücre membranı ve sitoplazma içi olmak üzere 3 bölümden ibarettir. HLA Class I ve Class I molekülleri temelde birbirine benzerler fakat fonksiyonları birbirinden farklıdır (76-79).

Class I molekülünün uzun polipeptid zinciri 44000 dalton molekül ağırlığında olup, disülfid bağları ile bağlı 3 kangaldan oluşmuştur ($\alpha 1, \alpha 2, \alpha 3$). Kangallardaki aminoasitlerin dizilimi antijenik özgülüğü oluşturur. Kısa polipeptid zinciri ise 12000 dalton molekül ağırlığındaki β_2 mikroglobulindir. β_2 mikroglobulinin moleküler yapısı immünglobulinlere benzer ve sentezi MHC dışında 15. kromozom tarafından kodlanır. β_2 mikroglobulin Class I molekülünün antijenik yapısında rol oynamaz ancak molekülün membran yüzeyinde temsil edilmesinde önemlidir (76,78-84).

HLA-Class II antijenleri ise plazma zarına batık durumdaki iki polipeptid zincirinden oluşmuştur. Uzun olan α polipeptid zinciri 34000, kısa olan β -polipeptid zinciri ise 29000 dalton molekül ağırlığındadır (76-79,81,82). HLA Class I ve Class II moleküllerinin şematik yapısı şekil 3'de görülmektedir (77).



Şekil 3 : HLA Class I ve Class II Moleküllerinin Şematik Yapısı (77)

Son olarak rekombinan DNA metotlarının geliştirilmesi çoğu HLA molekülündeki amino asit diziliminin anlaşılmasına yardım etmiştir. HLA-A2 molekülünün kristal yapısı da açıklığa kavuşmuştur (77).

Class I antijenleri nükleus tüm hücrelerde bulunur. Class II antijenleri ise makrofajlar, monositler, aktive T hücreleri ve B lenfositleri gibi hücrelerde bulunur. Class II antijenlerinin bulunduğu immün yetenekli hücre sayısının az oluşu bu antijenlerin tayinini zorlaştırmaktadır (76,78,79,81-83).

HLA antijenleri doku uyumunda ve immün cevabın regülasyonunda rol oynar. Self ve nonself ayırımı HMC yolu ile olmaktadır. Olgunlaşma süreci içinde T lenfositler kendi MHC'sini tanımaya ve antijeni sadece kendi MHC'si yolu ile görmeye programlanır. Class I ve II antijenleri antijenin helper ve sitotoksik T hücrelerine sunulmasında rol oynarlar. Helper (CD4) T lenfositler Class II antijenlerle ilişkili, sitotoksik (CD8) olanlar ise Class I antijenlerle ilişkili yabancı antijeni tanır (84,86).

HLA ANTİJENLERİNİN TAYİNİ

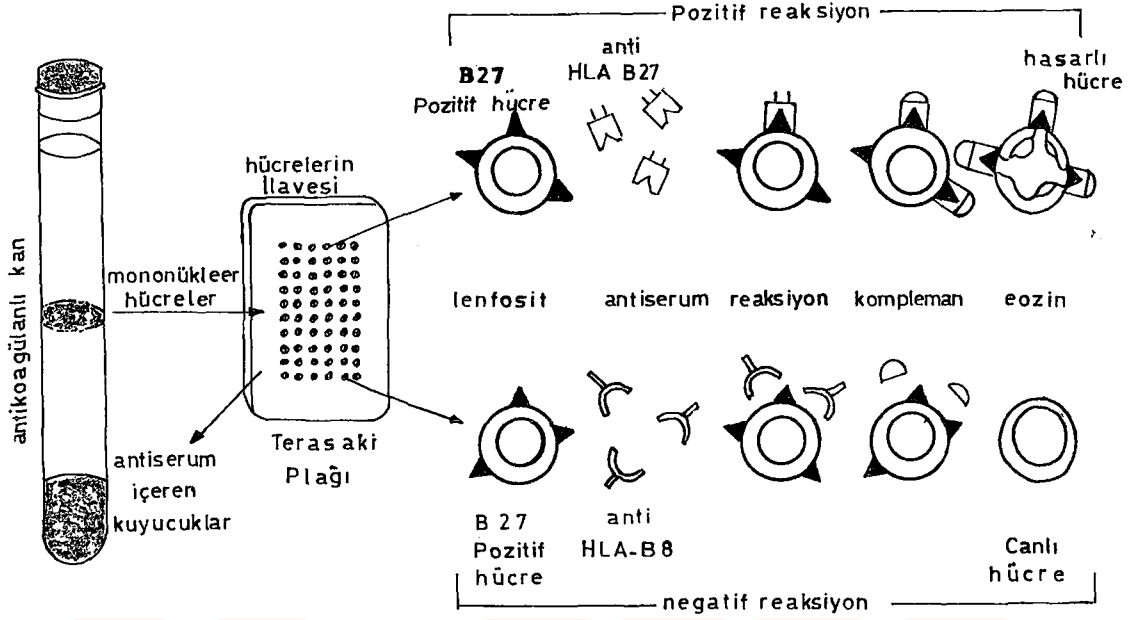
Bütün Class I antijenleri ile çoğu Class II antijenleri genetik olarak eş olmayan bireylerde humoral antikorların yapımını uyarırlar. Bu özellikleri nedeniyle serolojik olarak tayin edilebilirler. Serolojik yöntemler içerisinde en sık kullanılanı mikrolenfositotoksosite testidir (76,78,79,85-89).

Mikrolenfositotoksosite testi : Bu testin yapılabilmesi için antijen, antikor (antiserum) ve tavşan komplemanı gereklidir. Antijen HLA antijenleri saptanacak kişinin lenfositleridir. Bu lenfositler genellikle çevre kanından elde edilir. Kadavrada dalak ve lenf düğümleri de lenfosit kaynağı olabilir. Antiserumlar genellikle multipar kadınlardan sağlanır. Fetüsün babaya ait antijenleri ile immünize olan multipar kadınlardan alınan serumlar anti-HLA antikorları içerir. Politransfüze kişilerin serumları da HLA antikorları yönünden zengindir. Bu antiserumlar immün elektroforetik yöntemlerle ayrıştırılarak spesifik anti-HLA antikorları elde edilmiştir (76,78,79).

Mikrolenfositotoksosite testi küçük kuyucuklar içeren özel plaklarda yapılır. Herbir kuyucuğa sırasıyla; hangi HLA antijenine yönelik olduğu bilinen antiserum, HLA antijen tipleri tayin edilecek lenfositler ve kompleman konur. Antiserumlardaki antikorlar kompleman varlığında yöneldikleri antijenleri taşıyan lenfositler üzerinde sitotoksik etki göstereceklerdir. Faz kontrast mikroskopta ölü lenfositler canlılardan bazı boyaların yardımı ile kolaylıkla ayırt edilir. Bir kuyucukta lenfositlerin büyük çoğunluğunun ölü bulunması, bu lenfositlerin o kuyucuktaki antikorun özgülüğüne uyan bir HLA antijeni taşıdıklarını gösterir (76,78,79,88,89).

Lenfositotoksosite testi için Kissmeyer Nielsen ve NIH metodu uygulanmaktadır. 2 evreli NIH metodu daha duyarlıdır. Bu metotta lenfositler birinci aşamada antiserumla, ikinci aşamada ise komplemanla inkübe edilmektedir. Sonra eozin ile boyandıktan sonra formaldehit ile fikse edilip ters faz kontrast mikroskopta değerlendirilmektedir. Canlı hücreler kenarları düzgün ve parlak iken; ölü hücreler kenarları düzensiz, şiş ve mat görünümündedir (Şekil 4).

Ölüm oranı % 10'un altında ise negatif, % 80'in üzerinde ise kuvvetli pozitif olarak değerlendirilmektedir. Sağlıklı bir değerlendirme için pozitif ve negatif kontrollerin iyi çalışması gerekir (78,85-87).



Şekil 4 : Mikrolenfositotoksite Testi (89)

Boyama ve tesbit için Tripan mavisi-EDTA veya Stain-FIX™'de kullanılabilir (80,82).

HLA antiserumları-20⁰C'nin altındaki deep-freeze'de saklanmalı ve çözülen kompleman yeniden dondurularak kullanılmamalıdır. Ayrıca işlem esnasında kullanılan formaldehit ve Hanks' gibi solüsyonlürün pH'ları 7.2-7.4 arasında olmalıdır (78).

HLA-DR antijenleri de serolojik olarak aynı şekilde tayin edilebilmektedir. Ancak HLA, A,B,C tayini için total lenfositler kullanıldığı halde HLA-DR tayini için B lenfositlerin saflaştırılması gerekmektedir. Ayrıca inkübasyon süreleri Class I'e göre daha uzundur (76,78,79).

B-lenfositlerin saflaştırılmasında değişik yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar şu şekilde özetlenebilir. (79,89-94).

1-Nylon wool yöntemi : Nylon pamuk ihtiva eden bir kolonda yüzey özelliğinden dolayı B lenfositlerin tutulması esasına dayanır. Uzun zaman alması ve canlılık oranının düşük olması dezavantajdır (79,90).

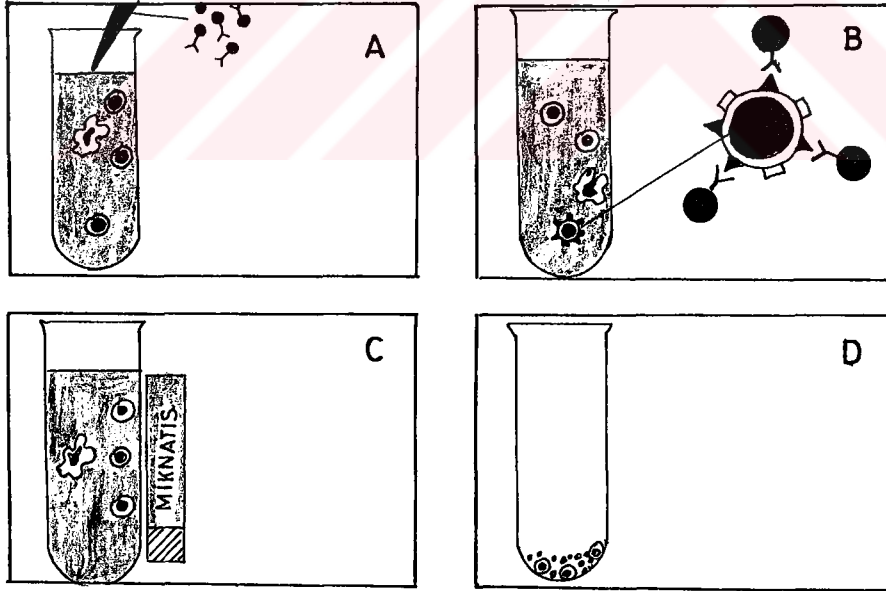
2-E.Rozet Testi : T-Lenfositlerin +4⁰C'de koyun eritrozetlerini çevrelerinde toplayarak rozet oluşturmaları ve bu rozetlerin santrifüjle çöktürülerek B lenfositlerden ayrılması

3-Monoklonal Antikorlar (mAb) : Bu yöntemde T ve/veya B lenfositlerine karşı spesifik monoklonal antikorlar kullanılmaktadır. Daha az zaman alması ile sağlık ve canlılık oranlarının daha yüksek olması bu yöntemin en büyük avantajıdır (92-94).

Pratik uygulamada mAb'ların kullanıldığı 2 metot mevcuttur (79).

a-Lynpho-Kwick metodu : T lenfositlerin spesifik Pan T-mAb'lar aracılığı ile lizisi ve daha sonra ortamdan uzaklaştırılması esasına dayanır.

b-İmmüno magnetik separasyon (IMS): Bu yöntemde T ve B lenfositlerinin yüzey antijenleri için spesifik monoklonal antikorlarla kaplı magnetik polystrene mikrobuncuklar (Dynabeads)^R kullanılmaktadır. Dynabead'lerle antikoagülanlı kan inkübe edilmekte ve hedef hücreleriyle rozet oluşturan dynabead'ler mıknatis yardımıyla tüpün bir kenarına yapışmaktadır. Bu şekilde yarım saat gibi kısa bir süre içerisinde % 99 saflık ve % 95'in üzerinde canlılıkta hücreler izole edilmektedir (92-94). Şekil 5'de immünomagnetik separasyon yöntemi şematik olarak görülmektedir.



Şekil 5: İmmüno Magnetik Separasyon Yöntemi (95).

İzole edilen hücre süspansiyonlarından 1'er µl kuyucuklara konarak 20-30 dk. oda ısısında inkübe edilir. Sonra kompleman ilavesi yapılır. 20-30 dk. sonra Dual-florescent boya (Acridine orange/Ethidium bromide) ile boyanarak immünfloresan mikroskopta

değerlendirilir. Canlı hücreler yeşil, ölü hücreler ise kırmızı olarak görünür. Değerlendirmesi çok kolaydır. Ayrıca mikroskoba otomatik okuyucu ve mikrokomputer de adapte edilebilir. Kolay, hızlı ve güvenilir bir yöntemdir. Ancak maliyeti biraz yüksektir (94).

B Lenfositlerin saflaştırılmasında kullanılan yöntemlerin birbirleriyle karşılaştırması Tablo-V'de görülmektedir (79).

Tablo V : B Lenfositlerin saflaştırılmasında kullanılan yöntemler ve verimlilik düzeyleri (79)

Yöntem	Nylon Wool	E-rozet	Lynpho-Kwick	İMS
B.lenfosit oranı	% 71	% 82	% 60	% 99
B.lenfosit canlılığı	% 50	% 30	% 75	% 95
DR plağında değer.kolaylığı	+	(+,-)	+++	++++

Son yıllarda polimerize zincir reaksiyonu (PCR) gibi genomik tekniklerin geliştirilmesiyle HLA-allelleri kesin olarak saptanabilmekte ve özellikle HLA-DR tayinindeki yanlışlıklar ortadan kalmaktadır (96). Ayrıca monospesifik antiserumu olan az sayıdaki HLA antijeni flow-cytometrik olarak da tayin edilebilmektedir (78). HLA-D lokus antijenleri ise mikst lenfosit reaksiyonu (MLR) denilen bir yöntemle tayin edilmektedir. MLR D lokusundaki bütün farklılıkları ortaya koyar. Özellikle kemik iliği transplantasyonunda önemlidir (76,78,79).

HLA ANTİJENLERİNİN KLİNİK ÖNEMİ

HLA antijenlerinin tayini (doku tiplemesi: tissue typing) klinikte çeşitli yönlerden önem taşır.

1-Transplantasyonlarda uygun (histokompatibl) verici seçimi: İdeal verici genetik yönden özdeş olan tek yumurta ikiz kardeşidir (singeneik transplantasyon). Böyle bir şans çok seyrek olduğundan insanda organ ve doku transplantasyonları genellikle allogeneik tiptedir.

Başarılı bir transplantasyon için major engel MHC'dir. Bugüne kadar yapılan

çalışmalar, alıcı ile verici arasındaki özdeş HLA antijenlerinin sayısı nedenli fazla ise, takılan böbreğin yaşam süresi yönünden, başarı oranının o denli yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Vericide bulunup alıcıda bulunmayan antijene Miss-Match (MM) denilmekte ve 4 MM'den fazlası uygun görülmemektedir. Graft sürveyi yönünden en önemlisi DR, sonra B lokus antijenlerinin uyumudur (97).

2-İmmün yanıtın düzenlenmesi : Transplantasyon fizyolojik bir olay olmadığından MHC sisteminin asıl fizyolojik fonksiyonu immün-tanırma olayında ortaya çıkar. Self ve nonself ayırımı MHC yolu ile olmaktadır. Olgunlaşma süreci içinde T hücresi kendi MHC'sini tanımaya ve antijeni sadece kendi MHC'si yolu ile görmeye programlanır (84).

Class I antijenleri sitotoksik (CD8) T hücrelerinin, Class II antijenleri ise helper T (CD4) hücrelerinin fonksiyonlarını düzenler. Class I ve II antijenleri immün cevabın ortaya çıkmasında, antijenin yardımcı ve sitotoksik T hücrelerine sunulmasında rol alırlar. CD4(+) olanlar Class II-antijenlerle ilişkili, CD8(+) olanlar ise Class I-antijenlerle ilişkili yabancı antijeni tanırlar. Bu nedenle MHC antijenlerinin yokluğu ağır sellüler immün yetmezlik tablosuna yol açar (22,79,84).

Fagosit edilen antijen makrofaj içerisinde lizozomlarla eritilir. Bazı antijen komponentleri hücre yüzeyine çıkarılarak hücrenin MHC antijenleri ile kompleks oluşturur. Sadece bu şekilde MHC antijenleri ile kompleks oluşturan antijen parçaları T lenfositlerini uyarabilir (77).

İmmün cevabın MHC içinde yer alan Ir genleri tarafından kontrol edildiği ve kişinin yabancı bir antijene karşı yanıt verip veremeyeceğinin bu genlerce belirlendiği sanılmaktadır. Bu genlerin kişilerde bazı hastalıklara karşı direnç veya duyarlılık oluşmasında rolleri olduğu düşünülmektedir (882,84).

3-Trombosit ve granülosit transfüzyonlarında uygun verici seçiminde : Özellikle trombositler çok immünojendir. Bu nedenle aplastik anemi, akut lösemi tedavisi ve özellikle de kemik iliği nakillerinde alıcı ile verici arasında HLA-uyumu gerekli olabilir (77).

4-Adli tıpta babalık tayini : HLA sistemi çok polimorfik bir sistemdir. Bu nedenle babalık tayininde HLA doku tiplemesi kan gruplarına göre çok daha üstün bir yöntemdir. Ancak bu konuda kromozom ve DNA çalışmaları daha spesifiktir (76,78,79).

5-Hastalıklarla HLA arasındaki ilişki : Son yıllarda HLA antijenleri ile bazı hastalıklar arasında bağlantı olduğu gözlenmiştir. Bu bağlantı kimi hastalıklarda son derece sıkı, kimi hastalıklarda ise nisbeten zayıftır. Örneğin, HLA-B27 ile ankilozan spondilit arasında güçlü bir beraberlik söz konusudur. Şöyleki, normal populasyonun % 9'unda bulunan HLA-B27 antijeni ankilozan spondilitlilerin % 90'ında mevcuttur (Rölatif risk : 91). Oysa multiple skleroz ile HLA-B7 antijeni arasındaki bağlantı zayıftır. Bu antijen normal kişilerde % 25, hastalarda % 36 oranında mevcuttur (rölatif risk : 1.5). Rölatif risk antijeni taşımayan kişilere göre, antijeni taşıyanların hastalığa yakalanma şanslarının nedenli fazla olduğunu gösterir. Tablo VI'da HLA antijenleri ile bağlantılı hastalıkların belli başlıları sıralanmış ve rölatif (RR)'in nasıl hesaplandığı gösterilmiştir (77). Görüldüğü gibi listenin başında romatizmal hastalıklar gelmektedir. Klinikte yüksek RR'li hastalıkların tanı ve ayırıcı tanısında, HLA tiplmesi yardımcı olabilmektedir. Ancak değişik toplumlarda bu antijenlerin sıklığı büyük farklılıklar gösterir.

Ayrıca HLA antijenleri ile hastalıklar arasındaki gerçek ilişkinin belirlenmesinde bağlantı dengesizliği durumu da göz önünde bulundurulmalıdır.

Tablo VI : HLA-Antijenleri ile bazı hastalıklar arasındaki ilişki
(Kafkas ırkı): (77)

Hastalık	Antijen	Rölatif risk
Ankilozan spondilit	B27	91
Reiter sendromu	B27	40.4
Akut anterior üveit	B27	7.98
Romatoid artrit	DR4	6.4
Sistemik lupus eritematozus	DR2	3.0
	DR3	2.7
Behçet hastalığı	B5	3.3
Sjögren sendromu	DR3	5.6
Graves hastalığı	DR3	3.8
İnsuline bağımlı	DR4	6.3
Diabetes mellitus	DR3	3.3
	DR3/4	33
	DR2	0.25
	DQw8	31.8

$$\text{Rölatif risk} = \frac{(\% \text{ antijen pozitif hasta}) \times (\% \text{ antijen negatif kontrol})}{(\% \text{ antijen negatif hasta}) \times (\% \text{ antijen pozitif kontrol})}$$

Bu hastalıkların çoğu HLA Class II antijenleri ile ilişkilidir. Bu birliktelik, işlenmiş antijenik fragmanların helper CD4 (+) T lenfositlere sunulmasında Class II moleküllerinin rolünü yansıtmaktadır.

HLA antijenleri ile ilişkili hastalıklar genelde birkaç ortak özelliğe sahiptir (98) :

1. Bu hastalıkların etyopatogenezi bilinmemektedir.
2. Herediter özelliğe sahiptir fakat geçişin zayıf olması nedeni ile belirli bir HLA antijeni ile mutlak bir beraberlik göstermez.
3. Bu hastalıklar immünolojik bozukluklarla birliktedir.

HLA ile ilişkili bu hastalıklar başlıca 4 grup altında toplanabilir (98) :

- 1-Enflamatuvar hastalıklar (ör: Ankilozan spondilit, Reiter hastalığı).
- 2-Kalıtsal metabolizma hastalıkları (ör: Hemakromatozis-A3).
- 3-Otoimmün-endokrin hastalıklar (çoğu HLA-DR lokusu ile ilişkili).
- 4-Kompleman yetersizliği sendromları.

Bu ilişkilerin hangi mekanizmalarla meydana geldiği tam olarak anlaşılmış değildir. Birçok mekanizmanın birlikte rol oynaması muhtemeldir. Öne sürülen mekanizmalar şunlardır (77).

a-İmmün yanıtın bozulması : Self-nonsel self ayırımı HLA antijenleri sayesinde olmakta ve self toleransın bozulması otoimmüniteyi başlatmaktadır. immün yanıtın regülasyonunda Tr genleri de rol oynamaktadır. Kişinin belirli bir antijene karşı iyi yada kötü immün yanıt verebilme yeteneğinin bu genler tarafından yönetildiği ve HLA ile yakın ilişkisi bulunan bu genlerin enfeksiyöz, neoplastik ve otoimmün hastalıklara karşı duyarlı ya da dirençli olmasında dol oynadıkları tahmin edilmektedir.

b-HLA molekülünün taklit edilmesi : Yabancı antijen konakçı hücreleri yüzeydeki HLA'yi taklit edebilir. Böylece kendini ortaya çıkacak immün yanıtı korur. Aksi de mümkündür. Patojene karşı oluşan kuvvetli immün yanıt moleküler benzerlik nedeniyle patojeni taşımayan sağlam dokulara da zarar verebilir.

c-HLA moleküllerinin etyolojik ajan için reseptör olarak görev yapması : Bu hipotez, diğer hücre yüzey antijenlerinin bazı virüsler için reseptör rolü oynadığı

gözlemine dayanmaktadır. Örneğin CD4 determinantı HIV için reseptör görevi yapmaktadır. Şayet B27 ankilozan spondilite neden olan virüs için reseptör ise, B27 antijeni pozitif olan şahısta ankilozan spondilit riski yüksektir, ancak hastalık sadece bu virüse maruz kalma sonucu ortaya çıkabilir.

d-T hücre antijen reseptörünün rolü : Hastalık predispozisyonunu T hücre antijen reseptörü belirler.

İNSULİNE BAĞIMLI DİABETES MELLİTUS, HEREDİTE VE HLA

Tip I diabet etyopatogenez açıdan organ spesifik otoimmün bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Klinik gözlemler ve deneysel çalışmalar otoimmün olayın ortaya çıkmasında HLA antijenleri ile ifade edilen genetik yapının önemini göstermektedir. Bu genetik yapı ya doğrudan ya da çevresel faktörlerin (virüsler, toksik maddeler, fizik ve psişik travma, gebelik vs) etkisiyle ve hiç kuşkusuz heriki sebeple otoagressiviteyi başlatmakta ve sürdürmektedir (99).

Irvine tip I diabeti çevre faktörlerinin hakim olduğu (tip I c), spontan (tip I a) ve her ikisinin birlikte olduğu (tip I b) olarak 3 alt gruba ayırmışsa da böyle bir ayırımın geçerliliği şüphelidir. HLA DR3 ve DR4 antijenlerinin IDDM'de HLA ile ilişkili diabete yatkınlık geni veya aksını tanımladığı ve bunlara S1 ve S2 aksları denebileceği ileri sürülmüştür. S1 paterninin primer otoimmün bir bozukluğu, S2'nin ise primer çevresel bir faktör ile buna sekonder otoimmün bir cevabı yansıttığı ileri sürülmüştür. S1 alt grubundaki bireylerde Haşimato tiroiditi ve adrenal yetmezlik gibi diğer otoimmün hastalıkların prevalansının yüksek olduğu belirtilmektedir (99).

Hastalığa öncülük eden otoimmün sürecin kökeni 6.kromozomun kısa kolu üzerindeki histokompatibilite (HLA) antijenleri ile yakından alakalıdır. Self-nonsel self ayrımı ve immün cevabın düzenlenmesi MHC yolu ile olmaktadır. İmmün saldırıyı tayin eden bu bölgedeki immün cevap genleridir. Self toleransın bozulması ise otoimmüniteyi başlatmaktadır (77). Pankreas adacık dokusuna bir saldırı elverişli genetik bir ortamda immün cevap oluşturarak yıllar sürececek bir otoagressiviteyi başlatabilir (99).

Tip I diabette ikiz konkordansı Tip II diabetten daha düşüktür (%54'e %91) (100). Birinci derecede akrabalarda diabet öyküsü Tip II diabetiklerin yaklaşık % 30'unda

mevcutken, Tip I diabetli hastaların sadece % 10'unda mevcuttur. Bu da Tip I diabette genetik komponentin adult diabete göre daha zayıf olduğunu göstermektedir. Ayrıca Tip I diabetin insidansında önemli oranda ırksal farklılıklar mevcuttur. Tip I diabet siyahlarda ve Japonlarda seyrek. Çünkü HLA-DR3 ve DR4 bu popülasyonda nadirdir (32).

Aile çalışmalarının sonuçları Tip I diabette yatkınlığın HLA-D/DR lokusu ile kuvvetli bir biçimde ilişkili olduğunu göstermektedir. Tip I diabetin HLA ile ilişkisi geniş olarak incelenmiş ve Tip I diabetli hastaların % 95'inden fazlasında HLA-DR3 ve/veya DR4 pozitif bulunmuştur. Hatta DR3/DR4 için heterozigot olanlarda IDDM riski yalnızca DR3 veya DR4 taşıyanlara göre daha fazladır. HLA-DR2 ile IDDM arasında ise negatif bir korelasyon mevcuttur (77,101-105).

Aile çalışmaları Tip I diabet için rölatif risk hesabını mümkün kılmıştır. HLA-DR3 antijenini taşıyan kişilerde Tip I diabet gelişme riski genel popülasyondan 3.3 misli fazladır. DR4'ü olanlarda ise 6.3 kere daha sıktır. DR3 ve DR4'ü birlikte taşıyanlarda ise risk 33 misli artmıştır (32,77,105).

Ayrıca Tip I diabet gelişen kardeşlerin % 60'ından fazlası HLA-idantik, % 35'i haploidantik, %5'den daha azı ise non-idantiktir. Diabetik bir kardeşe sahip çocukta Tip I diabet gelişme riski; Tip I diabetli kardeşi ile HLA-idantik ise 118 misli, haploidantik ise 31 misli artmıştır. HLA yönünden non idantik ise diabet gelişme riski normal popülasyondan farklı değildir. Şayet ailenin diabetik tek çocuğu varsa, doğacak çocukta diabet gelişme riskinin 15-20 kere fazla olduğu söylenebilir (32).

HLA-A1, A2, B8, B15, B18, B40, Cw7, Dw4, DR4, Dw3 ve DR3 doku gruplarında hastalığın görülme sıklığı yüksek (elverişli grup), buna karşılık HLA-A3, A11, B7, Dw2 ve DR gruplarında ise çok seyrek (diabete dirençli grup).

Avrupa ve Amerikadaki Tip I diabetli hastalarda en sık rastlanan 3 haplotip şunlardır (104).

1. A1, B8, Bw6, Cw7, DR3 haplotipi (% 10.7).
2. A2,Bw62 (15), Bw6, Cw3, DR4 (% 9.7)
3. A2, Bw56 (22), Cw1, DR4 (% 5.5).

Tip I diabete genetik dispozisyon primer olarak HLA-DR3 ve DR4 antijenleriyle nakledilmektedir. HLA-B8, B15 ve B18'deki artışların ise, açık bir şekilde HLA-DR3 ve DR4'deki artışa sekonder olduğu anlaşılmıştır (103). Zira; B8, B18 ve DQw2 ile DR3 arasında, A2, B15 ve DQw3 ile DR4 arasında, A3, B7 ve DQw1 ile DR2 arasında, A2 ile B44 ve A1 ile de B8 arasında bağlantı dengesizliği olduğu gösterilmiştir. DQw8 ise DQw3'ün spliti olup DR4 ile arasında bağlantı dengesizliği mevcuttur. Bu nedenle DQw8'i olanlarda RR çok yüksektir (RR : 31.8) (77,104).

Bu bulgular diabete eğilim yapan genlerin bir şekilde immün cevapla ilişkili olduğunu ve beta hücre tahribatına yol açan çevresel faktörlere aşırı duyarlılığa sebep olabileceğini düşündürmektedir (22,106).

Sonuç olarak; HLA tayini Tip I diabetin erken tanısında önemli bir role sahiptir. Ancak, HLA tayini halen kimde Tip I diabet gelişmeyeceği konusunda daha güvenilir sonuçlar vermektedir. DR3 ve DR4'ü bulunmayan kişilerin, özellikle rölatif olarak hastalıktan korunmayı işaret eden DR2'ye de sahipse hastalığa yakalanma şansının çok düşük olduğu kabul edilmektedir (77,105).

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma diabet süresi 10 yıldan fazla olan, hipertansiyonu ve klinik proteinürisi bulunmayan Tip I diabetli 55 hasta (29 erkek, 26 kadın) üzerinde yapıldı.

Bu hastalar 1988-1993 yılları arasında Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları kliniğinde Tip I diabet tanısı ile yatarak takip ve tedavi edilmiş toplam 210 vakadan davet üzerine kontrole gelen 66 hasta arasından seçildi. Tip I diabetli 210 hastanın arşivden dosyaları çıkarıldı. Bunlardan hipertansiyonu ve proteinürisi bulunmayan, diabet süresi 10 yılı aşan ve Erzuruma yakın çevrede oturan toplam 130 hastanın adreslerine mektup yollanarak kontrole çağrıldı. Çalışmaya kontrole gelen 66 hasta içerisinde uygun kriterleri taşıyan 55 vaka dahil edildi.

Diabeti 30 yaşından önce başlayıp insülin kullanmakta olan vakalar Tip I diabet olarak kabul edildi (21). Rutin idrar muayenesinde proteinüri veya hematürisi olan vakalar ile hipertansif (WHO kriterlerine göre 160/95 mmHg'nın üzeri) hastalar çalışma dışı bırakıldı. Üriner enfeksiyon ve konjestif kalp yetmezliği gibi renal veya sistemik başka bir hastalığı bulunan vakalar ve diabet süresi 10 yıldan kısa olan hastalar çalışmaya alınmadı. Ayrıca, ağır hiperglisemisi ve glikozürisi olan hastalar da çalışma kapsamı dışında bırakıldı. Bu nedenle bu çalışma yatarak tedavi gören ve bir çok komplikasyonu bulunan hastalar üzerinde değil, herhangi bir şikayeti olmayan ve ayaktan kontrole gelen vakalar üzerinde yapıldı.

Tüm hastalarda açlık kan glukoz düzeyi, kreatinin değeri ve HbA_{1c} düzeyi çalışıldı. Rutin idrar muayenesi yapıldı ve idrar kültürü alındı. Yaklaşık 1'er ay ara ile 2 kez toplanan 24 saatlik idrar örneklerinde mikroalbuminüri tayini yapıldı. Diabetik retinopati yönünden bütün hastalara fundoskopisi yapıldı. Vakaların yaş, vücut ağırlığı, diabet süresi ve başlangıç yaşı, kullandıkları ilaçlar kaydedildi.

Üriner albumin ekskresyonu (UAE)'nin 30 mg/gün'ün altında olması normoalbuminüri, 30-300 mg/gün arasında bulunması ise mikroalbuminüri olarak değerlendirildi (4,39,107). Yaklaşık 1'er ay ara ile 2 kez toplanan 24 saatlik idrar örneklerinin her ikisinde de normoalbuminüri veya her ikisinde de mikroalbuminüri tesbit edilen toplam 55 hastanın HLA-doku testleri yapıldı. HLA-doku tayinleri Kronik Böbrek Hastalıkları Tedavi Vakfı HLA-doku tiplendirme laboratuvarında çalışıldı. Kan glikozu ve kreatinin düzeyleri hastanemiz biyokimya laboratuvarındaki HİTACHI-Automatic Analyzer 705 cihazında uygun kitler kullanılarak çalışıldı. Rutin idrar muayenesi de otomatik cihazda yapıldı.

Tansiyon arteriyel yatar pozisyonda ve bir süre dinlendikten sonra sağ koldan sfigmomanometre ile iki kez ölçüldü. Ortalama arteriyel basınç (OAB) diyastolik kan

basıncına nabız basıncının üçte biri eklenerek hesaplandı (69). Oftalmoskopik gözdeki değerlendirilmesi hastanemiz göz hastalıkları polikliniğinde yapıldı.

Üriner albumin ekskresyonları yaklaşık 1'er ay ara ile 2 kez alınan 24 saatlik idrar örneklerinde immünopresipitasyon yöntemi ile ölçüldü ve iki değerlerin ortalaması alındı. İdrar toplama işlemi sırasında hastalardan normal aktivitelere devam etmeleri ve zorlu fiziksel aktivitelerden sakınmaları istendi. 24 saatlik idrar miktarları kaydedildi ve 10'ar cc'lik numuneler analiz işlemine kadar -70°C'da derin dondurucuda muhafaza edildi.

Mikroalbuminürinin İmmünopresipitasyon Yöntemi İle Ölçümü

Mikroalbuminüri düzeyleri "SPQ TEST SYSTEM for MICROALBUMIN" (Incstar Corporation, USA, Cat No : 86072) ticari kiti kullanılarak hastanemiz biyokimya laboratuvarında immünopresipitasyon yöntemiyle ölçüldü. Ölçümler Mitsubishi S2 818 otoanalizörde yapıldı. Testin intraassay % CV'si 3, interassay % CV'si ise 4.3 idi.

1-İdrar örnekleri çalışmadan 6 saat önce derin dondurucudan çıkarılarak, çözünmesi ve oda sıcaklığına gelmesi sağlandı.

2-Örnekler çalışma öncesi santrifuj edildi.

3-Otoanalizör kit prospektüsüne uygun olarak programlandı.

4-Standart ve kontrol numuneleri çalışılarak kalibre edildi.

5-Daha sonra numuneler gode'ler içerisinde otoanalizöre verildi.

6-mg/litre olarak kaydedilen sonuçlar idrar volümlerine göre uyarlanarak mg/gün değerine çevrildi.

HbA_{1c} Düzeylerinin Tayini :

HbA_{1c} düzeyleri "Glyc-Affin™ GHb" (Isolab Inc, USA, Cat No : SG 6220) ticari kiti kullanılarak kromatografik yöntemle ölçüldü.

Bunun için EDTA'lı plastik tüplere 2'şer cc venöz kan örnekleri alındı ve hastanemiz biyokimya laboratuvarında aynı gün içinde çalışıldı. Testin intra ve interassay % CV'si 3'den küçüktü ve normal değeri % 6±2 idi.

1-Antikoagülanlı kan örneğinden 50 µl alınarak 400 µl "Sample preparation reagent" ile karıştırıldı ve 10 dakika bekletildi.

2-Hazırlanan hemolizattan 50 µl Glyc Affin kolonlarına tatbik edildi.

3-Birkaç basamak işlemten sonra Non-Glikolize hemoglobinler uzaklaştırıldı.

4-Glikohemoglobinler "second fraction elution agent" ile kolonlardan tüpleri alındı.

5-Daha sonra spektrofotometrik analiz ile absorbanslar elde edildi ve

$$6- \% \text{GHb} = \frac{100 \times \text{GHb'in absorbansı}}{\text{GHb'in absorbansı} + (10 \times \text{Non GHb'in absorbansı})} \text{ formülünden hesaplandı.}$$

HLA-Class I ve Class II Doku Antijenlerinin Tayini

Hastaların HLA-Doku tayinleri serolojik olarak standart iki aşamalı NIH (National Institute of Health) mikrolenfositotoksosite yöntemi ile yapıldı (76,78,79,85,88,89). Bunun için Biotest'den alınan ve -70°C 'de derin dondurucuda muhafaza edilen lymphotype HLA-ABC 72 (Lot No : 723001) ve lymphotype HLA-DR 72 (lot No : 68 3306) hazır Terasaki plakları kullanıldı. Plaklar üzerindeki kuyucuklarda 1'er μl HLA-antiserumu ve parafin mevcuttu.

T ve B lenfositlerin izolasyonunda immünomagnetik separasyon yöntemi kullanıldı ve hücreler dual-florescent boya ile boyanarak invert immünfloresan mikroskopta değerlendirildi (92-94, 108-110).

Kan verecek kişilerin aç olmaları ve 24 saat öncesinden insülin dışında herhangi bir ilaç almamaları sağlandı.

Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Hanks'solüsyonu (Sigma), Histopaque-1077 gradient solüsyonu (Sigma)
- Terasaki ABC plağı (lymphotype HLA-ABC 72, Biotest, Lot No : 723001)
- Terasaki DR plağı (lymphotype DR 72, Biotest, Lot No : 683306)
- Class I reaktifi (Dynabeads^R, HLA Class I, Dynal, Lot No : 7000)
- Class II reaktifi (Dynabeads^R, HLA-Class II, Dynal, Lot : 6922)
- Liyofilize Rabbit complement (Behring), Foetal Calf serum (Seromed S 0113)
- Acridine orange (Sigma A 6014), Ethidium bromide (Sigma E 8751)
- Ethanol (% 95'lik), NaOH (Merck)
- Trinatrium citrate (Merck), NaCl (Natrium chlorid-Merck)
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ (Natrium hidrojen fosfat-2 hidrat, Merck)
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12 \text{H}_2\text{O}$ (Dinatrium hidrojen fosfat-12 hidrat-Merck)
- Heparin (liquemine)^R Distile su (RO su arıtma sisteminden alındı).

Kullanılan tıbbi malzemeler :

- Magnetic Particle Concentrator (Dyna MPC^R-6), Coulter Mixer, Pasteur pipeti
- Hamilton enjektörü (1-50 µl), mikropipetler (10-100 µl ve 100-1000 µl'lik)
- Santrifüj (Heraeus, Labofuge), immünfloresan mikroskobu (Olympus)
- PH metre,steril pipet uçları, plastik 10 cc'lik enjektör, steril eldiven

Solüsyonların hazırlanması:

1-Phosphate Buffered Saline (PBS)'in hazırlanması :

NaCl : 8.1 g

Na H₂ PO₄ x 2 H₂O : 0.177 g

Na₂ HPO₄ x 12 H₂O : 1.98 g hassas terazide tartılarak 1000 ml distile suda çözüldü. Solüsyonun PH'ı Na OH ile PH metrede 7.4'e ayarlandı. Sonra süzme kağıdından süzülüp ağzı kapalı olarak buzdolabında muhafaza edildi. Kullanım öncesi zaman zaman PH'ı yeniden kontrol edildi.

2-Sitratlı PBS (% 0.6'lik)'in hazırlanması : Önce 12 gram Trinatrium sitrat 100 ml distile suda çözülerek % 12'lik stok sitrat çözeltisi hazırlandı. Bu solüsyon +4⁰C'da buzdolabında saklandı. Bu çözeltiden 5 ml alınıp üzerine 95 ml PBS ilave edilerek % 0.6'lik sitratlı PBS elde edildi ve bitere kadar kullanıldı.

3-Komplemanın hazırlanması : Liyofilize kompleman kullanım öncesi 1 ml distile suda çözüldü. Her defasında yeniden taze olarak hazırlandı.

4-% 2'lik Foetal Calf Serum (FCS)'un hazırlanması : 50 ml FCS üzerine 2.5 ml Hanks'solüsyonu ilave edilerek her defasında yeniden hazırlandı. Derin dondurucudan çıkarılan 1 ml'lik FCS solüsyonu 15 gün süre ile buzdolabında +4⁰C'da muhafaza edildi ve % 2'lik FCS'in hazırlanmasında kullanıldı.

5-Acridine orange/Ethidium bromide (AO/EB) boya solüsyonunun hazırlanması : 15 mg acridine orange ve 50 mg ethidium bromide hassas terazide tartılarak (eldivenli ve maskeli olarak) 1 ml % 95'lik etanol içerisinde çözüldü. Üzerine 49 ml PBS ilave edilerek iyice karıştırıldı. Bu stok boya solüsyonu ağzı kapalı plastik tüplere 1'er ml olarak bölündü ve deep freeze'de saklandı. Kullanım öncesi 1 ml stok solüsyonu üzerine 14 ml PBS ilave edilerek karıştırıldı ve kullanım süresince (yaklaşık 15 gün) buzdolabında karanlıkta saklandı. Ayrıca her kullanım öncesi santrifüj edildi.

Solüsyonların muhafazası :

Hazır Terasaki plakları, FCS ve stok boya solüsyonu -70°C 'de derin dondurucuda muhafaza edildi. Terasaki plakları özel ambalajlarında ve buz içerisinde getirildi ve kullanıma kadar hiç çözülmemesine dikkat edildi. İsraf olmaması için FCS solüsyonu ağzı kapaklı steril plastik tüplere 1'er ml bölünerek donduruldu.

Hanks' solüsyonu, histopaque -1077, liyofilize kompleman, reaktifler, PBS ve sitratlı-PBS solüsyonları, kullanım için hazır boya (AO/EB) solüsyonu, % 12'lik stok sitrat solüsyonu ve % 2'lik FCS $+4^{\circ}\text{C}$ 'de buzdolabında muhafaza edildi.

HLA DOKU TİPİ TAYİNİ (Mikrolenfositotoksisite yöntemi ile) (76,78,79,85-89)

A-Total lenfosit izolasyonu : Ficoll Hapaque üzerinde santrifüjle total lenfosit izolasyonu zaman aldığı ve işlem süresini uzattığı için hedeflenen lenfositlerin direkt olarak 'Hanks'solüsyonu+antikoagülanlı kan" karışımından ayrı ayrı izolasyonu önerilmektedir (92-94,108-110). Ancak bu işlemde class I ve class II reaktiflerinin 100'er μl kullanılması gerekmektedir. Çok pahalı olan bu reaktiflerden tasarruf etmek ve maliyeti düşürmek amacıyla bu metod Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi İmmünoloji laboratuvarında uygulandığı gibi modifiye edilerek önce total lenfosit izolasyonu yapılmış ve 50'şer μl reaktif kullanılmıştır.

-Hastadan aç karnına, heparinle yıkanmış plastik enjektöre 5 ml venöz kan alındı ve hemen işleme konuldu.

-Alınan kan cam tüp içerisindeki 5 ml Hanks'solüsyonu üzerine konarak pipetle karıştırıldı.

-Santrifüj tüpü içerisine konmuş olan 4 ml gradient solüsyonu (histopaque-1077) üzerine Hanks' ile karıştırılmış olan kandan tüpün kenarı boyunca pipetle 5 ml yavaşça yerleştirildi.

-20 dakika süre ile 1500 devirde santrifüj edilerek eritrositler dibe çöktürüldü ve lenfositler tabakalandırıldı.

-Lymphoprep (histopaque)^R üzerinde beyaz bir bant şeklinde tabaka(buffy coat) oluşturan lenfositler üstten bir Pasteur pipetle girilerek 2 ayrı plastik tüpe alındı.

B-İmmüno Magnetik Separasyonla T ve B Lenfosit Ayırımı (92-94,108-110).

-Total lenfosit süspansiyonu içeren ve ağzları kapatılan bu tüpler, içerisinde buz bulunan bir kap içerisinde buzdolabına yerleştirilerek $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 20 dakika süre ile soğutuldu.

-Tüplerin üzerleri işaretlenerek birine 50 µl class I reaktifi (Dynabeads-HLA class I), diğerine de 50 µl class II reaktifi (Dynabeads-HLA class II) ilave edildi.

-Kapakları kapatılarak 5 dakika süre ile coulter mikserde karıştırıldı.

-Sonra, tüpler dolana kadar üzerlerine soğuk sitrathlı PBS konarak kapakları kapatıldı.

-Tüpler magnetic particle concentrator (MPC)'a yerleştirildi ve 2 dakika süre ile magnette alt üst edilerek karıştırıldı. Böylece birinci tüpte T-lenfositlerin (CD8+), ikinci tüpte ise B lenfositlerin tüpün bir kenarı boyunca toplanarak tüpe yapışması sağlandı.

-Tüpler magnette iken kapakları açılarak sıvı kısmı (süpernatant) döküldü ve pelet üzerine tüp dolana kadar soğuk normal PBS ilave edildi.

-Tüpler magnetten çıkarıldı, birkaç kez alt üst edilerek karıştırıldı ve tekrar magnette yerleştirildi.

-1 dakika süre ile magnette alt üst edilerek lenfositlerin tekrar tüpün kenarına yapışması sağlandı.

-Sonra kapakları açılarak süpernatant döküldü ve bir kurutma kağıdı ile lenfositlere dokunmayacak şekilde sıvı artıkları alındı. Böylece PBS ile 2 defa yıkama yapılmış oldu.

-Tüpler MPC'den çıkarılarak üzerlerine Class I için 200 µl, Class II için ise 100 µl % 2'lik FCS ilave edildi ve ayrı pipetlerle karıştırıldı. Böylece µl'sinde yaklaşık 2500-3000 lenfosit içeren süspansiyon hazırlanmış oldu.

C-Plakların hazırlanması ve lenfosit süspansiyonlarının ilavesi

-Herbir kuyucuğunda 1'er µl anti-ABC veya HLA-DR antiserumu ihtiva eden Terasaki plakları derin dondurucudan çıkarılarak oda ısısında çözünmeleri sağlandı.

-Hazırlanan bu lenfosit süspansiyonlarından HLA-plakları üzerindeki kuyucuklara ayrı Hamilton pipetleri ile 1'er µl ilave edildi (T lenfositler ABC plaklarına, B lenfositler ise DR plaklarına).

-Plakların kapakları kapatılarak oda ısısında (20-24⁰C) 20 dakika süre ile inkübe edildi (Antijen-antikor reaksiyonu).

D-Komplemanla muamele : Herbir kuyucuğa 4'er µl yeni sulandırılmış tavşan komplemanı konarak oda ısısında tekrar 20 dakika inkübasyona bırakıldı (sitolitik reaksiyon).

E-Boyama işlemi : Sonra, evvelce hazırlanmış olan AO/EB boya solüsyonu santrifüj edildikten sonra herbir kuyucuğa 8'er µl ilave edildi. Buzdolabında karanlıkta 5-10

dakika bekledikten sonra (staining reaksiyon) silkelenerek fazla sıvı ve parafin akıtıldı ve 100 (10x10) büyütmede immünfloresan mikroskopta (inverted) değerlendirildi (excitation filter 450/490nm).

F-Değerlendirme : Negatif kuyucuklardaki canlı hücreler yeşil renkte görülürken (AO'a bağlı), pozitif kuyucuklardaki ölü hücreler kırmızı olarak görülüyordu. Çünkü EB bozulan hücrelere girerek onların kırmızı renk almasını sağlamaktadır (108). Önce pozitif ve negatif kontrol kuyucukları değerlendirildi. Çünkü negatif kontrol background'u, pozitif kontrol ise kompleman aktivitesini değerlendirmede önemlidir. Sonra diğer kuyucuklar değerlendirildi ve % 80'in üzerindeki ölüm oranı pozitif olarak kabul edildi (78).

Kontrol grubu : HLA antijenlerinin Türk toplumundaki normal sıklığı için kontrol grubu olarak 1986-1993 yılları arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Transplantasyon ünitesi doku tiplendirme laboratuvarında doku testi yapılan toplam 3731 sağlıklı kişinin sonuçları alındı (111). Kontrol grubuna ait 38 Class I antijeni ve 11 Class II antijeni sonuçları bulunduğundan biz de istatistiksel değerlendirmede sadece bu antijenleri dikkate aldık ve bunların dışındaki diğer antijenleri hariç tuttuk.

İstatistiksel Analizler : Macintosh bilgisayarda Stat-View istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Karşılaştırmalar için Student's-t testi (unpaired) ve ki-kare (χ^2) testleri kullanıldı. İki % arasındaki farkın önemliliği ise oran testi ile değerlendirildi.

HLA-antijenlerinin mikroalbuminüri için sensitivite ve spesivite değerleri ise şu şekilde hesap edildi (112).

$$\text{Sensitivite (duyarlılık)} = [a/(a+d)] \times 100,$$

$$\text{Spesivite (özgülük)} = [b/(b+c)] \times 100,$$

$$\text{Pozitif tahmin değeri} = [a/(a+c)] \times 100,$$

$$\text{Negatif tahmin değeri} = [b/(b+d)] \times 100,$$

$$\text{Tanısal doğruluk} = [(a+b)/(a+b+c+d)] \times 100,$$

a= gerçek pozitif, b= gerçek negatif, c= yalancı pozitif, d = yalancı negatif

Rölatif riskin hesaplanmasında ise aşağıdaki formül kullanıldı (77).

$$\text{RR} = \frac{(\% \text{ antijen pozitif hasta}) \times (\% \text{ antijen negatif kontrol})}{(\% \text{ antijen negatif hasta}) \times (\% \text{ antijen pozitif kontrol})}$$

BULGULAR

Çalışmamız Tip I diabetli 55 hasta üzerinde yapıldı. Bu hastaların 29'u erkek (%52.72), 26'sı kadın (%47.3) olup, kadın/erkek oranı 1/1.1 idi. Hastaların yaş ortalaması 28.36 ± 9.16 (14-48) yıl, ortalama diabet süresi ise 13.85 ± 3.67 (10-25) yıl olarak bulundu. Bu hastalara ait diğer bulgular Tablo VII'de görülmektedir.

Tablo VII : Tip I diabetli 55 hastanın özellikleri (X±SD)

Yaş (yıl)	28.36 ± 9.16	(14-48)
VA (kg)	58.32 ± 12.83	(32-90)
OAB (mmHg)	93.87 ± 6.80	(80-110)
Diabet süresi (yıl)	13.85 ± 3.67	(10-25)
D.başlangıç yaşı (yıl)	14.47 ± 7.81	(2-29)
Serum kreatinini (%mg)	0.94 ± 0.21	(0.5-1.4)
HbA _{1c} düzeyi (%)	10.92 ± 2.10	(7.8-15)
UAE (mg/gün)	81.03 ± 77.5	(4-255)

VA : Vücut ağırlığı, UAE : Üriner albumin ekskresyonu, OAB : Ortalama arteriyel basınç

Retinopati sıklığı, ailede diabet ve hipertansiyon anamnezi ile diabetin başlangıç yaşı yönünden vakaların değerlendirilmesi ise tablo VIII'de görülmektedir.

Tablo VIII : Hastalara ait diğer özellikler (n=55)

Özellikler	n	%
Retinopati	15	27.27
Ailede diabet öyküsü	10	18.18
Ailede hipertansiyon	17	30.90
D.Başlangıç yaşı < 15	30	54.54
D.Başlangıç yaşı ≥ 15	25	45.45

Onbeş vakada (%27.3) basit diabetik retinopati tespit edilmiş olup, hastaların hiçbirinde proliferatif retinopatiye rastlanmadı.

Tip I diabetli hasta (n=55) ve sağlıklı kontrol (n=3731) gruplarındaki HLA-antijenlerinin dağılımı, antijen sıklığı yönünden her iki grubun karşılaştırılması ve rölatif risk değerleri tablo IX ve X'da görülmektedir. Ayrıca Tip I diabetli hastalarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede daha sık veya daha seyrek görülen HLA antijenleri de tablo XI ve XII'de gösterilmiştir.

Tablo IX : HLA Class I antijenlerinin hasta ve kontrollere göre dağılımı

HLA	Hasta (n=55)		Kontrol (n=3431)		Karşılaştırma		RR
	n	%	n	%	χ^2	p	
A1	16	29.0	764	20	2.46	*	1.63
A2	35	63.6	1668	45	7.84	<0.01	2.13
A3	8	14.5	833	22	1.899	*	0.60
A9	14	25.4	972	26	0.01	*	0.97
A23	2	3.6	147	4	0.207	*	0.89
A24	12	21.8	786	21	0.018	*	1.04
A10	8	14.5	381	10	1.104	*	1.52
A25	1	1.8	39	1	0.31	*	1.81
A26	6	10.9	398	10.67	0.003	*	0.98
A11	5	19.1	508	14	0.947	*	0.60
A28	9	16.3	618	17	0.002	*	0.95
A29	3	5.45	126	3	0.711	*	1.84
A30	6	10.91	298	8	0.627	*	1.40
A31	3	5.45	203	5.44	0.00001	*	1.08
B5	15	27.27	1111	30	0.163	*	0.87
B51	11	20	603	16.16	0.588	*	1.31
B52	2	3.6	67	2	1.026	*	1.82
B7	2	3.6	346	9.27	2.064	*	0.37
B8	16	29	337	9	25.794	<0.001	4.12
B12	12	21.82	512	14	2.979	*	1.71
B44	10	18.18	372	10	4.028	p<0.05	1.97
B13	5	9.09	278	7.45	0.211	*	1.31
B14	4	7.27	172	5	0.867	*	1.43
B15	7	12.72	196	5	5.967	<0.02	2.76
B16	7	12.72	268	7	2.473	*	1.93
B17	2	3.63	242	6	0.73	*	0.58
B18	11	20.0	356	10	6.772	<0.01	2.25
B21	7	12.72	366	10	0.519	*	1.31
B49	5	9.09	202	5	1.418	*	1.87
B27	4	7.27	230	6	0.115	*	1.17
B35	14	25.45	1225	33	1.34	*	0.69
B40	4	7.27	333	9	0.183	*	0.79
Bw4	38	69	2534	68	0.034	*	1.04
Bw6	41	74.54	2703	72	0.12	*	1.13
Cw1	2	3.6	178	5	0.154	*	0.70
Cw2	7	12.7	300	8	1.598	*	1.67
Cw3	11	20.0	440	12	3.479	*	1.83
Cw4	20	36.36	1166	31	0.658	*	1.25

* : p>0.05, RR : rölatif risk

Tabloda görüldüğü gibi RR'in en yüksek olduğu antijenler HLA DR3/4, DR4, DR3 ve B8 antijenleri idi. Hastaların % 76'sında DR4, % 61'inde DR3, % 52.7'sinde ise DR3/4 antijenleri mevcuttu, HLA-A2 antijeni vakaların % 63.6'sında, B8 antijen ise % 29'unda tesbit edildi.

Tablo X : HLA Class II antijenlerinin hasta ve kontrollere göre dağılımı

HLA	Hasta (n=55)		Kontrol (n=3731)		Karşılaştırma		RR
	n	%	n	%	χ^2	p	
DR1	7	12.72	393	11	0.276	*	1.17
DR2	3	5.45	811	22	8.514	<0.01	0.20
DR3	34	61.82	901	24.15	41.355	<0.001	4.95
DR4	42	76.36	1157	31	51.519	<0.001	7.04
DR5	10	18.18	1712	46	16.777	<0.001	0.25
DRw11	6	10.90	717	17	2.422	*	0.59
DR7	6	10.90	1033	28	7.662	<0.01	0.31
DR9	4	7.27	354	9	0.311	*	0.79
DR52	30	54.00	1426	38	6.103	<0.02	1.91
DR53	31	56.00	1169	31	15.687	<0.001	2.83
DQw1	9	16.36	657	18	0.058	*	0.89
DR3/DR4	29	52.72	298	8	137.48	<0.001	12.83

* : $p>0.05$, RR : Rölatif risk

Tablo XII'de görüldüğü gibi RR in en düşük olduğu antijenler HLA-DR2, DR5 ve DR7 antijenleri idi. Class I antijenleri içerisinde A3 ve B7 antijenlerinin sıklığı ise kontrol grubuna göre daha düşük olmakla birlikte bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı ($p>0.05$).

Üriner albumin ekskresyonu (24 saatlik)'nin tayini sonucu hastaların 25'inde (%45.45) normoalbuminüri, 30'unda ise (%54.54) persistan mikroalbuminüri tesbit edildi.

Normoalbuminüri hastalar ile mikroalbuminüri hastalar arasında yaş, vücut ağırlığı (VA), diabet süresi, ortalama arteriyel basınç (OAB), diabetin başlangıç yaşı, HbA_{1c} ve serum kreatinin düzeyi yönünden istatistiksel olarak önemli bir fark bulunamadı (Tablo XIII).

Tablo XI : Tip I diabetli hastalarda kontrol grubuna göre önemli derecede sık görülen HLA Class I ve Class II antijenleri

HLA	Kontrol grubu (n=3731)		Hasta grubu (n=55)		Karşılaştırma		RR
	n	%	n	%	χ^2	p	
A2	1168	45	35	63.63	7.848	p<0.01	2.13
B8	337	9	16	29	25.794	p<0.001	4.12
B44	372	10	10	18.18	4.028	p<0.05	1.97
B15	196	5	7	12.72	5.967	p<0.02	2.76
B18	356	10	11	20.0	6.772	p<0.01	2.25
DR3	901	24	34	61.0	41.355	p<0.001	4.95
DR4	1157	31	42	76.36	51.519	p<0.001	7.04
DR3/4	298	8	29	52.72	137.49	p<0.001	12.83
DR52	1426	38	30	54	6.103	p<0.02	1.91
DR53	1169	31	31	56	15.687	p<0.001	2.83

RR : Rölatif risk

Tablo XII : Hastalarımızda daha seyrek görülen HLA antijenleri

HLA	Kontrol grubu (n=3731)		Hasta grubu (n=55)		Karşılaştırma		RR
	n	%	n	%	χ^2	p	
DR2	811	22	3	5.4	8.514	P<0.01	0.20
DR5	1712	46	10	18.18	16.77	P<0.001	0.25
DR7	1033	28	6	10.90	7.662	P<0.01	0.31

RR : Rölatif risk

Tablo XIII : Normoalbuminürili (n=25) ve mikroalbuminürili (n=30) hastaların karşılaştırılması (X±SD).

Parametreler	Normoalbuminürik grup	Mikroalbuminürik grup	t	p
	(n=25)	(n=30)		
Yaş (yıl)	28.8±9.12 (15-48)	28.0±9.33 (14-47)	0.32	p>0.05
VA (kg)	56.28±10.45 (38-85)	60.03±14.47 (32-90)	1.08	p>0.05
D.süresi (yıl)	13.68±4.02 (10-24)	14.0±3.42 (10-25)	0.31	p>0.05
OAB) (mmHg)	93.76±6.63 (83-107)	93.96±7.05 (80-110)	0.11	p>0.05
S.kreatinini (%mg)	0.91±0.24 (0.5-1.4)	0.97±0.18 (0.6-1.3)	1.11	p>0.05
HbA1c (%)	10.83±2.02 (7.9-14.5)	11.0±2.2 (7.8-15)	0.29	p>0.05
D.başlangıç yaşı (yıl)	15.04±8.30 (4-29)	14.0±7.49 (2-29)	0.48	p>0.05
UAE (mg/gün)	11.92±5.37 (4-22)	138.63±60.19 (36-225)	10.47	p<0.0005

Normoalbuminürili herbir hastaya ait bulgular Ek-I'de, mikroalbuminürili hastalara ait bulgular ise Ek-II'de ayrıca gösterilmektedir. Normoalbuminürili ve Mikroalbuminürili hastalardaki HLA-Antijenlerinin dağılımı, antijen sıklığı yönünden her iki grubun karşılaştırılması ve rölatif risk değerleri Tablo XIV ve XV'de görülmektedir

Normoalbuminüri veya mikroalbuminürisi olan herbir hastaya ait HLA-doku tiplendirme sonuçları da Ek-III ve Ek-IV'de ayrıca gösterilmiştir.

Mikroalbuminürik, normoalbuminürik ve nondiyabetik kontrol grupları arasında istatistiksel olarak farklılık gösteren HLA antijenlerinin sıklığı Tablo XVI'da toplu olarak görülmektedir.

Mikroalbuminürik grupta normoalbuminürik gruba göre sadece HLA-A2 ve B8 antijeni istatistiksel olarak anlamlı derecede daha sık bulundu (p<0.01 ve p<0.05 sırasıyla).

Tablo XIV : HLA-Class I Antijenleri yönünden normoalbuminürik ve mikroalbuminürik hastaların karşılaştırılması

HLA	Normoalbuminüri (n=25)		Mikroalbuminüri (n=30)		Karşılaştırma		RR
	n	%	n	%	χ^2	p	
A1	7	28	9	30	0.26	*	1.10
A2	11	44	24	80	7.637	<0.01	5.09
A3	4	16	4	13.33	0.078	*	0.80
A9	6	24	8	26.67	0.51	*	1.12
A23	1	4	1	3.33	0.017	*	0.81
A24	5	20	7	23.33	0.089	*	1.21
A10	4	16	4	13.33	0.078	*	0.80
A25	1	4	0	0	1.222	*	-
A26	3	12	3	10	0.056	*	0.81
A11	3	12	2	6.67	0.469	*	0.52
A28	4	16	5	16.67	0.004	*	1.01
A29	2	8	1	3.33	0.576	*	0.39
A30	3	12	3	10.00	0.056	*	0.81
A31	2	8	1	3.33	0.576	*	0.39
B5	8	32	7	23.33	0.516	*	0.63
B51	5	20	6	20	0	*	1.00
B52	1	4	1	3.33	0.017	*	0.81
B7	1	4	1	3.33	0.017	*	0.81
B8	4	16	12	40	3.808	p<0.05	3.5
B12	4	16	8	26.67	0.91	*	1.90
B44	3	12	7	23.33	1.177	*	2.22
B13	3	12	2	6.67	0.468	*	0.52
B14	2	8	2	6.67	0.036	*	0.82
B15	3	12	4	13.33	0.022	*	1.12
B16	4	16	3	10.0	0.442	*	0.58
B17	1	4	1	3.33	0.017	*	0.81
B18	6	24	5	16.67	0.456	*	0.63
B21	3	12	4	13.33	0.022	*	1.12
B49	2	8	3	10.0	0.066	*	1.27
B27	2	8	2	6.66	0.036	*	0.82
B35	7	28	7	23.33	0.157	*	0.78
B40	2	8	2	6.67	0.036	*	0.82
Bw4	18	72	20	66.67	0.182	*	0.77
Bw6	19	76	22	73.33	0.051	*	0.86
Cw1	1	4	1	3.33	0.017	*	0.81
Cw2	3	12	4	13.33	0.022	*	1.12
Cw3	5	20	6	20.0	0	*	1.00
Cw4	9	36	11	36.37	0.003	*	1.01

* : p>0.05, RR : rölaf risk

Tablo XV : Normoalbuminürik ve mikroalbuminürik hastaların HLA-Class II antijenleri yönünden karşılaştırılması

HLA	Normoalbuminürik Grup (n=25)		Mikroalbuminürik Grup (n=30)		Karşılaştırma		RR
	n	%	n	%	χ^2	p	
DR1	3	12	4	13.33	0.022	*	1.12
DR2	1	4	2	6.66	0.188	*	1.71
DR3	14	56	20	66.67	0.657	*	1.52
DR4	18	72	24	80	0.484	*	1.55
DR5	5	20	5	16.67	0.102	*	0.77
DRw11	3	12	3	10	0.056	*	0.81
DR7	3	12	3	10	0.056	*	0.81
DR9	2	8	2	6.67	0.036	*	0.82
DR52	15	60	15	50	0.55	*	0.66
DR53	14	56	17	56.67	0.002	*	1.02
DQw1	4	16	5	16.67	0.004	*	1.04
DR3/DR4	10	40	19	63.33	2.979	*	2.55

* : $p > 0.05$, RR : rölatif risk

HLA-A2, B8, B12, B44 ve B15 antijenleri bakımından normoalbuminürik grup ile kontrol grubu arasında herhangi bir farklılık gözlenmezken, mikroalbuminürik grupta bu antijenlerin kontrol grubuna göre önemli derecede daha sık olduğu tesbit edildi. HLA-A2 ve B8 antijenlerinin sıklığındaki artış, diğerlerindeki artışa göre çok daha anlamlı idi ($p < 0.001$). HLA-B18 antijeninin oranı ise kontrol grubuna göre normoalbuminürik grupta daha yüksek idi ($p < 0.02$).

HLA-DR3, DR4, DR3/4 antijenleri her iki grupta da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak çok anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu ($p < 0.001$). HLA-DR2, DR5 ve DR7 antijenlerinin yüzdesi ise her iki grupta da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük bulundu.

Başlangıç diabetik nefropatisi olan (persistan mikroalbuminürik) hastalarda normoalbuminürik vakalara göre daha sık görülen (rölatif risk > 2) Class I ve Class II HLA antijenleri Tablo XVII'de ayrıca görülmektedir.

Tablo XVI : HLA-Antijenlerinin gruplardaki dağılımı ve gruplararası karşılaştırmalar

HLA	Mikroalbuminürik (n=30)		Normoalbuminürik (n=25)		Nondiabetik (n=3731)	
	n	%	n	%	n	%
A2	24 ^{a,f}	% 80	11	% 44	1668	% 45
B8	12 ^{b,f}	% 40	4	% 16	337	% 9
B12	8 ^c	% 26	4	% 16	512	% 14
B44	7 ^d	% 23	3	% 12	372	% 10
B15	4 ^c	% 13	3	% 12	196	% 5
B18	5	% 16	6 ^d	% 24	356	% 10
DR2	2 ^c	% 6.6	1 ^c	% 4	811	% 22
DR3	20 ^f	% 66	14 ^f	% 56	901	% 24
DR4	24 ^f	% 80	18 ^f	% 72	1157	% 31
DR3/4	19 ^f	% 63	10 ^f	% 40	298	% 8
DR5	5 ^e	% 16	5 ^e	% 20	1712	% 46
DR7	3 ^c	% 10	3 ^c	% 12	1033	% 28
DR53	17 ^e	% 56	14 ^d	% 56	1169	% 31

a:p<0.01, b:p<0.05 (normoalbuminürik grupla)

c:p<0.05, d:p<0.02 e:p<0.01, f:p<0.01 (nondiabetik kontrol grubu ile)

Tablo XVII'de de görüldüğü gibi A2 antijeni müsbet olanlarla bu antijeni taşımayanlara göre persistan mikroalbuminüri (başlangıç DN) görülme riski (RR) 5 kat, B8'i olanlarda 3.5 kat, B44'ü olanlarda 2.2 kat, DR3/DR4'ü birlikte taşıyanlarda ise 2.5 kat artmış olarak bulundu. Mikroalbuminüri hastalarda A2 ve B8 antijenlerinin prevalansı normoalbuminüri hastalara göre yüksek bulunurken, B44 ve DR3/4 antijenlerinin sıklığı bakımından iki grup arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık tesbit edilemedi.

HLA Class I ve Class II antijenlerinden hiçbirinin sıklığı mikroalbuminürik grupta normoalbuminürik gruba göre istatistiksel olarak önemli derecede daha düşük değildi.

Bazı HLA antijenlerini taşıyan ve taşımayan hastalardaki mikroalbuminüri sıklığı tablo XVIII'de, UAE'nu ise tablo XIX'da görülmektedir.

Tablo XVII : Mikroalbuminürik grupta daha sık görülen HLA antijenleri

HLA	Normaalalbuminürik grup(n=25)		Mikroalbuminürik grup(n=30)		Karşılaştırma		Rölatif risk
	n	%	n	%	χ^2	p	
A2	11	44	24	80	7.63	p<0.01	5.09
B8	4	16	12	40	3.80	p<0.05	3.52
B44	3	12	7	23	1.17	p>0.05	2.22
DR3/4	10	40	19	63	2.98	p>0.05	2.52
A2+B8	1	4	9	30	6.19	P<0.02	10.28

Tablo XVIII : Bazı HLA antijenlerini taşıyan ve taşımayan hastalardaki mikroalbuminüri sıklığı (%)

HLA antijeni	Antijen (+)'lerdeki mikroalbuminüri %	Antijen (-)'lerdeki mikroalbuminüri %	χ^2	p	Rölatif risk
A2	% 68.57 (24/35)	% 30 (6/20)	7.637	p<0.01	5.09
B7	% 50 (1/2)	% 54.71 (29/53)	0.017	p>0.05	0.82
B8	% 75 (12/16)	% 46.15 (18/39)	3.808	p<0.05	3.52
B15	% 50 (4/8)	% 55.31 (26/47)	0.078	p>0.05	0.81
B18	% 45.45 (5/11)	% 56.81 (25/44)	0.458	p>0.05	0.63
B44	% 70 (7/10)	% 51.11 (23/45)	1.177	p>0.05	2.22
DR2	% 66.66 (2/3)	% 53.84 (28/52)	0.188	p>0.05	1.71
DR3	%58.82 (20/34)	% 47.61 (10/21)	0.657	p>0.05	1.57
DR4	% 57.14 (24/42)	% 46.15 (6/13)	0.613	p>0.05	1.55
DR3/4	% 65.51 (19/29)	% 42.30 (11/26)	2.979	p>0.05	2.59
A2+B8	% 90 (9/10)	% 46 (21/45)	6.19	p>0.02	10.28

Tablo XIX : HLA A2, B8 ve DR3/4 antijenlerini taşıyan ve taşımayan hastaların UAE yönünden karşılaştırılması (X±SD)

HLA Antijeni	Antijen (+)lerdeki UAE (mg/gün)	Antijen (-)lerdeki UAE (mg/gün)	t	p
A2	95.05±78 n=35	58.0±73. n=20	1.72	p<0.05
B8	120.31±83 n=16	64.92±70 n=39	2.52	p<0.01
DR3/4	101.17±78 n=29	58.57±71 n=26	2.097	p<0.025

HLA-A2, B8 ve DR3/4 antijenlerinin mikroalbuminüri için sensitivite, spesivite ve tanısal doğruluk değerleri Tablo XX'de görülmektedir.

Tablo XX : HLA-A2, B8 ve DR3/4 antijenlerinin mikroalbuminüri için sensitivite, spesivite ve tanısal doğruluk değerleri.

HLA	Sensitivite	Spesivite	(+) tahmin değeri %	(-) tahmin değeri (%)	tanısal doğruluk	χ^2	p
A2	%80	% 56	% 68	% 70	% 69	9.27	p<0.01
B8	% 40	% 84	% 75	% 53	% 60	5.06	p<0.05
DR3/4	% 63	% 60	% 65	% 57	% 61	1.28	p>0.05
A2+B8	% 30	% 96	% 90	% 53	% 60	8.06	p<0.01

Tablo XX'de de görüldüğü gibi HLA-A2 antijeni mikroalbuminüri için en yüksek sensitivite değerine (%80), B8 antijeni ise en yüksek spesivite değerine (%84) sahip bulunmuştur. HLA-B8 antijeni en yüksek pozitif tahmin değerine (%75), HLA-A2 antijeni ise en yüksek negatif tahmin değeri (%70) ve tanısal doğruluğa (%69) sahip bulunmuştur. HLA-DR3/4'ün ise sensitivite, spesivite ve tanısal doğruluk değerleri düşük bulunmuştur (p>0.05). A2+B8'i pozitif olan 10 hastanın 9'unda mikroalbuminüri tesbit edildi. A2+B8 birlikteliği

mikroalbuminürlü hastaların 9'unda (%30), normoalbuminürlü hastaların ise sadece 1'inde (%4) mevcuttu. A2+B8 antijeni birlikte değerlendirildiğinde mikroalbuminüri için sensitivite azalmakta birlikte, spesivite %96'ya, pozitif tahmin değeri de %90'a çıkmaktadır. Yani A2+B8 antijenlerini birlikte taşıyanların büyük çoğunluğunda mikroalbuminüri bulunmaktadır.

Cinsiyet, retinopati mevcudiyeti, diyabetin başlangıç yaşı, ailede hipertansiyon (HT) ve diyabet öyküsü bakımından normoalbuminürlü ve mikroalbuminürlü vakaların karşılaştırılması Tablo XXI'de görülmektedir.

Tablo XXI : Normoalbuminürik ve mikroalbuminürik grupların bazı özellikleri yönünden karşılaştırılması.

Parametreler	Normoalbuminürik grup (n=25)		Mikroalbuminürik grup (n=25)		χ^2	p
	n	%	n	%		
Erkek	13	% 52	16	% 53	0.01	p>0.05
Kadın	12	% 48	14	% 46		
Retinopatisi olan	3	% 12	12	% 40	5.39	p<0.05
Retinopatisi olmayan	22	% 88	18	% 60		
D.başlangıç yaşı <15	11	% 44	19	% 63	2.05	p>0.05
D.başlangıç yaşı ≥15	14	% 56	11	% 36		
Ailede HT olan	4	% 16	13	% 43	4.771	p<0.05
Ailede HT olmayan	21	% 84	17	% 56		
Ailede diabeti olan	4	% 16	6	% 20	0.147	p>0.05
Ailede diabeti olmayan	21	% 84	24	% 80		

Normoalbuminürik ve mikroalbuminürik gruplar arasında cinsiyet ve birinci dereceden yakınlarında diyabet anamnezi yönünden herhangi bir farklılık tesbit edilemedi (p>0.05)

Retinopatisi olan 15 vakanın 12'sinde (%80) mikroalbuminüri mevcutken, retinopatisi olmayan 40 hastanın sadece 18'inde (% 45) mikroalbuminüri tesbit edildi. Retinopatisi olanlarda mikroalbuminüri prevalansı daha yüksekti. Oranlar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Z=2.33,p<0.05).

Diyabetin başlangıç yaşı 15'den küçük olan 30 hastanın 19'u mikroalbuminürik iken (%63), başlangıç yaşı 15'in üzerinde olan 25 vakanın 11'inde (%44) mikroalbuminüri mevcuttu. Oranlar arasındaki farklılık ise önemsizdi (Z=1.40, p>0.05).

Ailede hipertansiyon öyküsü olan 17 hastanın 13'ünde (%76) mikroalbuminüri tesbit edilirken, birinci dereceden yakınlarında hipertansiyon anemnezi olmayan 38 vakanın sadece 17'sinde (%44) mikroalbuminüri mevcuttu. Ailede hipertansiyon öyküsü olanlarda olmayanlara göre mikroalbuminüri prevalansı önemli derecede daha yüksek bulundu ($Z=2.20$, $p<0.05$).



TARTIŞMA

Tip I diabetik hastaların yaklaşık % 30-40 kadarında 15-20 yıllık bir diabet süresinden sonra klinik nefropati gelişmektedir (4,113). Klinik sendrom; persistan albuminüri, kan basıncında yükselme ve müteakiben GFR da azalma ile karakterizedir (4). DN batı dünyasında tek başına SDBY'nin en önemli nedenidir. Birleşik Devletlerde renal replasman tedavisi gören bütün hastaların % 25'inden fazlasını diabetiklerin oluşturduğu ve etyolojik nedenler arasında ilk sırada yer aldığı bildirilmektedir (2,24).

Klinik nefropati (persistan proteinüri) gelişen Tip I diabetli hastalarda mortalite son derece yüksek olup ortalama sürvey 7 yıldır. Bu yüzden nefropati gelişimi için yüksek risk taşıyan hastaları erkenden belirlemenin büyük önemi vardır (4).

Tip I diabette nefropati ve diğer mikroanjiopatik komplikasyonların primer olarak zayıf metabolik kontrolden mi, yoksa genetik bir hassasiyetten mi kaynaklandığı konusunda farklı görüşler mevcuttur (114).

Tip I diabetli hastaların yaklaşık üçte birinde DN gelişirken, diğerlerinde uzun diabet süresine rağmen nefropati gelişmemesinin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Diabetik populasyon içerisindeki bu farklılık tek başına metabolik regülasyonla izah edilemez. Zira yetersiz kontrole rağmen uzun yıllar sonra bile önemli bir komplikasyon gelişmeyen hastaların yanısıra, mükemmel glisemik kontrole rağmen erkenden şiddetli nefropati gelişen hastalar da vardır. Bu durum etyopatogenezde genetik faktörlerin de rol oynadığını düşündürmektedir (6-10). Ayrıca DN'ye ailevi bir eğilimin bulunduğu da gösterilmiştir (10,11).

Diabetik mikrovasküler komplikasyonların patogenezinde metabolik kontrolün kalitesi önemli olmakla birlikte bu komplikasyonlara karşı yatkınlık veya direnç oluşturan ve henüz tam olarak bilinmeyen başka faktörler de mevcuttur (14).

Konvansiyonel ve intensif insülin tedavilerinin karşılaştırıldığı çok merkezli bir çalışmada (DCCT), intensif insülin tedavisi ile ortalama % 7.2'lik HbA1c düzeyi sağlandığı halde 6 yıllık takip sonunda mikroalbuminüri gelişim riskinde sadece % 35'lik bir azalma tesbit edilmiştir. Olguların üçte ikisinde ise mikroalbuminüri gelişimi üzerine yoğun glisemik kontrolün etkisi olmamıştır (115). Bu gözlem de nefropatiyi önlemede glisemik kontrolün önemli ancak tek başına yeterli olmadığını göstermektedir.

Biz de bu çalışmamızda uzun diabet süresi (13.6 ± 4 yıl) ve yetersiz metabolik kontrole rağmen ($HbA1c = \% 10.8 \pm 2$) vakaların yaklaşık yarısında mikroalbuminüri tesbit edemedik. Bu da DN gelişiminde hipergliseminin sorumlu tek faktör olmadığını göstermektedir.

Renal transplantasyon yapılan diabetik hastalarda transplante böbrekte ortaya çıkan diabetik lezyonların progresyon oranı da son derece farklıdır. Bazı hastaların 8-10 yıl içerisinde yeniden son evreye ilerlediği, bir kısmında ise uzun yıllara rağmen lezyonların ilerlemediği gösterilmiştir. Hastalardaki bu farklı seyrin vasküler hastalığın ilerlemesi için yatkınlık veya direnç sağlayan genetik faktörlerin kontrolü altında olduğu belirtilmektedir (12).

Diabetik nefropatiye hassasiyet ya da direnç oluşumunun HLA-sistemi ile ilişkili olduğu ve HLA-doku tiplemesinin IDDM'da renal hastalık riskini tayinde kullanılabileceği bildirilmektedir (7,12,13). Ancak retinopatinin aksine, nefropati ve HLA ilişkisi henüz yeterince araştırılmamıştır. Bu konuda yapılan çalışmaların çoğu yerleşmiş proteinürisi veya renal yetersizliği bulunan hastalar üzerinde yoğunlaşmıştır ve sonuçları da çelişkilidir (7,9,12-18).

Diabet süresi, metabolik kontrol ve hipertansiyon nefropati oluşumu ve seyrini etkilediğinden ve klinik nefropatisi olan hastalarda hipertansiyon mutlak bir bulgu olduğundan (116); proteinürisi veya renal yetersizliği bulunan hastalarda nefropati seyrini etkileyen bu parametreler bakımından uygun kontrol grubu bulmak son derece güçtür. Hasta ve kontrol grupları benzer kriterleri taşımayınca da yanlış sonuçların elde edilmesi doğaldır.

Bu nedenle biz bu çalışmamızda HLA artijenleri ile diabetik renal hastalığın erken bulgusu olan mikroalbuminüri arasındaki ilişkiyi inceledik. Çünkü Tip I diabetli hastalarda mikroalbuminüri daha sonra gelişecek nefropatinin kuvvetli bir habercisidir (3,26,27,45,51,54). Persistan mikroalbuminürisi olan Tip I diabetli hastaların % 80'inde 10 yıl içerisinde klinik nefropati geliştiği gözlenmiştir (3,27). Bu nedenle persistan mikroalbuminüri "başlangıç diabetik nefropati" olarak da adlandırılmaktadır (27,53).

Çalışmamızda mikroalbuminüri hastaların seçilmesi ile hem uygun kontrol grubu bulmak (diabet süresi, HbA1c düzeyi ve kan basıncı yönünden) kolaylaşmış, hem de hipertansiyonun yol açacağı yanlış sonuçlardan kaçınılmıştır. Ayrıca HLA ile ilişkili risk faktörlerinin erken evrede belirlenmesi tedavi açısından da son derece önemlidir. Böylece

yüksek risk taşıyan hastalarda vasküler komplikasyonları önlemeye yönelik daha yoğun tedavi programlarının uygulanması mümkün olabilecektir (7,12).

Çalışmamıza diabet süresi 10 yılı geçen vakalar alındı. Çünkü Tip I diabetin ilk 5 yılında mikroalbuminüri nadiren görülmektedir (3,25,47). Ayrıca, üriner enfeksiyon, hipertansiyon ve konjektif kalp yetmezliği gibi UAE'nu artırabilecek renal veya sistemik başka bir hastalığı bulunan vakalar da çalışmaya alınmadı (49).

Tip I diabetli hastaların % 25-40 kadarında 10-15 yıllık bir diabet süresinden sonra mikroalbuminüri görüldüğü bildirilmektedir (117). Biz de çalışmamızda ortalama diabet süresi 13.8 ± 3.6 (10-25) yıl olan 55 hastanın 30'unda (%54) mikroalbuminüri tesbit ettik. Hastalarımızdaki yüksek mikroalbuminüri sıklığı; çalışmaya sadece diabet süresi 10 yılı geçen hastaların alınmış olmasına ve/veya yetersiz metabolik kontrole (ortalama $HbA1c = 10.92 \pm 2$) bağlı olabilir.

Tip I diabete genetik yatkınlığın HLA-DR3 ve DR4 antijenleriyle ilişkili olduğu bildirilmektedir. Çünkü bu hastaların % 95'inden fazlasında HLA-DR3 ve/veya DR4 antijen; mevcuttur (7,32). Ancak HLA DR3 ve DR4'ü pozitif olan kişilerin sadece küçük bir kısmı diabetiktir. Bu durum HLA-DR3 ve DR4 moleküllerinin diabet oluşumu için gerekli ancak yeterli olmadığını göstermektedir (118). HLA-DR3 ve DR4 antijenlerini birlikte taşımanın, bu antijenlerden yalnız birini tek başına buldurmaya göre tip I diabete daha büyük bir predispozisyon oluşturduğu da bildirilmektedir. Tip I diabet ile HLA-DR2 arasında ise negatif bir korelasyon mevcuttur (77,101,105,119).

Biz de bu çalışmamızda Tip I diabetli hastalarda kontrol grubuna göre HLA-DR3,DR4 ve DR3/DR4 sıklığını istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek ($p < 0.001$) bulduk. HLA-DR4 antijeni hastaların % 76'sında, HLA-DR3 antijeni % 61'inde HLA-DR3/4 antijeni ise % 52.7'sinde mevcuttu. Tip I diabet için RR değeri antijeni olmayanlara göre HLA-DR3/DR4'ü olanlarda yaklaşık 13, DR4'ü olanlarda 7, DR3'ü olanlarda ise 5 kat daha yüksek bulundu. Çalışmamızda ayrıca HLA-A2,B8,B44,B15 ve B18 sıklığı da diabetik grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek idi. Hastaların % 63'ünde HLA-A2, % 29'unda ise HLA-B8 antijeni mevcuttu. HLA-B8 antijeni (+) olanlarda bu antijeni olmayanlara göre Tip I diabet için RR 4 kat fazla idi. HLA-A2, B15 ve B18 antijenleri için de RR değeri 2'nin üzerinde bulundu.

Tip I diabete genetik dispozisyonun primer olarak HLA-DR3 ve DR4 antijenleriyle nakledildiği, HLA-B8, B15 ve B18'deki artışların ise HLA-DR3 ve DR4'deki artışlara sekonder olduğu bildirilmektedir (103). Zira B8 ve B18 ile DR3 arasında A2, ve B15 ile de DR4 arasında bağlantı dengesizliği mevcuttur. HLA-B44 sıklığındaki artış da yine bağlantı dengesizliği sonucu HLA-A2'deki artışa bağlıdır (77,103,104). Ayrıca IDDM'li hastalarda HLA-A3, B7, DR2, DR5 ve DR7 prevalansı nondiyabetik kontrollerden düşük bulunmuştur. HLA-A3 ve B7'deki düşüklükler HLA-DR2 antijeni ile olan bağlantı dengesizliğinin sonucudur (15,103,119).

Biz de çalışmamızda tip I diabetli hastalarda HLA-DR2, DR5 ve DR7 sıklığının kontrol grubuna göre önemli derecede düşük olduğunu tesbit ettik ($p<0.01$, $p<0.001$ ve $p<0.01$ sırasıyla). Tip I diabet için RR HLA-DR2 antijeni pozitif olanlarda 0.20, HLA-DR5'i (+) olanlarda 0.25, HLA-DR7'si (+) olanlarda ise 0.31 olarak hesap edildi. HLA-A3 ve B7 antijenlerinin sıklığı ise kontrol grubuna göre daha düşük olmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p>0.05$).

HLA ile ilişkili genetik faktörler tip I diabetin patogenezinde rol oynadığına göre, hastalığın klinik olarak hafif veya ağır seyretmesinde ve mikroanjiopatik komplikasyonların görülüp görülmemesinde de rol oynayabilirler. Benzer diyabetik kontrole sahip hastalarda farklı klinik sıklık ve şiddette komplikasyon görülmesi etyopatogenezinde genetik faktörlerin rolünü göstermektedir (32).

Mikroanjiopatiye yatkınlık için total genetik katkı metabolik faktörlere göre küçük bile olsa, hastalığın seyrinde bu genetik faktörlerin erkenden bilinmesi daha yoğun tedaviyi gerektiren hastaların belirlenmesinde önemli rol oynayacaktır (12).

Bazı HLA antijenleri ile diyabetik mikroanjiopati, özellikle de retinopati arasında ilişki olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. HLA-B8, B15 veya DR4'ü pozitif olan kişilerde retinopati sıklığı daha yüksek bulunmuştur (12,120,121,122). Ancak retinopatinin aksine nefropati ve HLA ilişkisi henüz yeterince araştırılmamıştır. Bu konuda yapılan çalışmaların çoğu yerleşmiş proteinüri veya renal yetersizliği bulunan vakalar üzerinde yoğunlaşmıştır (7,9,12-18). Ayrıca bazı çalışmalarda vaka sayısı az (19), bazılarında ise hasta seçim kriterleri bozuk olup uygun kontrol grubu bulunmamaktadır. Bu nedenle de bu konuda yapılan çalışmaların sonuçları çelişkilidir (13,14,16,8).

Başlangıç evrede diabetik nefropatisi bulunan hastalarda HLA antijenlerinin dağılımı ve mikroalbuminüri-HLA ilişkisi konusunda ise çok az sayıda çalışma mevcuttur (7,19,123).

Barbosa ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada SDBY bulunan ve transplantasyon için hazırlanan Tip I diabetli 110 hastada HLA-A1 ve B8 antijenlerinin nondiabetik kontrollere göre önemli derecede daha sık olduğu ($p<0.02$ ve $p<0.01$ sırasıyla) tesbit edilmiş ve nefropatinin HLA-B8 antijeni ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (124).

Barbosa tarafından daha sonra yapılan bir çalışmada ise terminal dönemde nefropatisi olan Tip I diabetli 99 hasta ile diabet süresi ve diğer klinik özellikleri bakımından benzer olan ancak klinik olarak herhangi bir böbrek hastalığı bulunmayan IDDM'lu 96 hasta HLA-Class I antijenlerinin sıklığı yönünden karşılaştırılmış ve her iki grupta da HLA-B8, B15 ve B18 antijenlerinin sıklığının arttığı, B7 ve B12 sıklığının ise azaldığı; ancak bu antijenlerin sıklığı bakımından iki grup arasında önemli bir farklılık olmadığı tesbit edilmiştir (125).

Pitkanen ve arkadaşları diabet süresi yönünden benzer olan üremik ve non üremik diabetik hastalar arasında HLA antijenlerinin sıklığı yönünden herhangi bir farklılık bulamamışlardır. Ancak bu çalışmada non üremik hastalardaki renal fonksiyonların düzeyi belirtilmemiştir (15).

Jervell ve arkadaşları tarafından yapılan diğer bir çalışmada da SDBY nedeniyle renal transplantasyon yapılan tip I diabetli bir grup hastada HLA-B8, Bw15 ve B18 antijenlerinin genel popülasyona göre daha sık ($p<0.0005$), HLA-B7 ve B12 antijenlerinin ise daha seyrek görüldüğü tesbit edilmiş ancak klinik nefropatisi olmayan tip I diabetli kontrol grubu ile arada hiçbir farklılık bulunamamıştır (18).

Biz de çalışmamızda mikroalbuminürik hastalarda HLA-A2, B8, B12, B44 ve B15 antijenlerinin sıklığını nondiabetik kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bulduk. Normoalbuminürik hastalarla nondiabetik kontrol grubu arasında ise bu antijenlerin sıklığı bakımından önemli bir farklılık tesbit edemedik.

Walton ve arkadaşları klinik nefropatisi bulunan Tip I diabetli bir grup hasta ile diabet süresi 25 yılı geçtiği halde nefropatisi olmayan diğer bir grup hastayı HLA antijenlerinin sıklığı yönünden karşılaştırmışlar ve HLA-A, B, DR veya Bf yönünden gruplar arasında anlamlı bir farklılık tesbit edememişlerdir. DN'li hastalarda nondiabetik kontrol grubuna göre

HLA-B8 sıklığı önemli derecede daha yüksek (% 61'e % 28; $p<0.01$) bulunmuştur. Yine bu çalışmada HLA-A2 sıklığı nefropatili grupta % 57, nefropatisi olmayan hastalarda % 46, nondiyabetik kontrol grubunda ise % 49 olarak tesbit edilmiş ve aradaki fark önemsiz bulunmuştur. Ancak bu çalışmada diyabet süreleri ve glisemik kontrol bakımından grupların uyumlu olmadığı anlaşılmaktadır (14).

Çalışmamızda ise gruplar arasında diyabet süresi, glisemik kontrol ve kan basıncı yönünden herhangi bir farklılık yokken mikroalbuminüri hastalarda HLA A2 sıklığı (%80), hem normoalbuminürik gruba (%44), hem de nondiyabetik kontrol grubuna göre (%45) istatistiksel olarak önemli derecede daha yüksek bulunmuştur ($p<0.01$ ve $p<0.001$ sırasıyla).

Yerleşmiş nefropatisi bulunan Tip I diyabetli hastalarda HLA-DR3/DR4 fenotipinin daha seyrek görüldüğü bildirilmiştir (13,16). Ancak bu durum diğer çalışmalarca doğrulanmamıştır (12,14).

Salardi ve arkadaşları mikroalbuminürik hastalarda normoalbuminürik gruba göre HLA-DR3/DR4 sıklığını önemli derecede daha yüksek bulmuşlardır ($p<0.01$) (123). Biz de bu çalışmamızda aynı şekilde HLA-DR3/DR4 sıklığını mikroalbuminürik grupta normoalbuminürik gruba göre daha yüksek bulduk (% 63'e % 40). Ancak aradaki fark istatistiksel olarak önemli düzeyde değildi ($p>0.05$).

Poortmans ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise subklinik albuminüri ile HLA-DR3 ve DR4 arasında bir ilişki bulunamamıştır. Ancak bu çalışmada vaka sayısı çok az olup sadece 2 HLA antijeni çalışılmıştır (19).

Watts ve arkadaşları tarafından klinik proteinürisi ve hipertansiyonu olmayan, Tip I diyabetli 172 hasta üzerinde yapılan bir çalışmada; HLA-A2 antijeni ile mikroalbuminüri mevcudiyeti arasında önemli bir beraberlik tesbit edilmiş, HLA-A2 dışındaki diğer antijenler (HLA-B8, B15, DR3, DR4 veya diğerleri) ile mikroalbuminüri arasında ise herhangi bir ilişki bulunamamıştır. HLA-A2 pozitifliği ile birlikte mikroalbuminürinin rölatif riski 2.52 olarak bulunmuş ($p<0.05$) ve HLA-A2 antijenini taşıyan hastaların bu antijeni taşımayanlara göre önemli derecede daha yüksek UAE değerine sahip oldukları tesbit edilmiştir (7).

Biz de bu çalışmamızda mikroalbuminürik hastalarda HLA-A2 ve B8 antijenlerinin normoalbuminürik gruba göre daha sık olduğunu tesbit ettik (% 80'e %44, $p<0.01$ ve %

40'a % 16, $p < 0.05$ sırasıyla). Diğer HLA antijenleri ile mikroalbuminüri arasında ise istatistiksel olarak önemli bir ilişki bulamadık.

HLA-A2 antijenini taşıyanlarda bu antijeni taşımayanlara göre mikroalbuminüri sıklığının önemli derecede daha yüksek olduğunu tesbit ettik (%68'e % 30; $p < 0.01$). HLA-A2 antijeni müsbet olanlarda mikroalbuminürinin RR'ni ise 5.09 olarak bulduk. Yani A2 antijeni bulunanlarda mikroalbuminüri görülme riski yaklaşık 5 kat artmıştı. Çalışmamızda ayrıca HLA-A2, B8 ve DR3/4 antijenlerini taşıyan hastalarda bu antijenleri olmayanlara göre ortalama UAE değerleri önemli derecede daha yüksek ($p < 0.05$, $p < 0.01$ ve $p < 0.025$ sırasıyla) bulundu.

Watts ve arkadaşlarınca klinik proteinürisi ve hipertansiyonu olmayan Tip I diabetli 160 hasta ortalama 5.3 yıl süre ile takip edilmiş ve 15 hastada (%9.4) makroalbuminüri geliştiği tesbit edilmiştir. Yaş, cins, diabet süresi, kan basıncı ve HbA1C düzeyi yönünden benzer olan, ancak makroalbuminüri gelişmeyen diğer bir grup ile karşılaştırıldığında; makroalbuminürik hastalarda HLA-A2 sıklığı önemli derecede daha yüksek bulunmuştur. Nonmakroalbuminürik 15 hastanın sadece 7'sinde HLA-A2 antijeni mevcutken, makroalbuminüri gelişen hastaların hepsinde HLA-A2 antijeni pozitif bulunmuştur ($p < 0.01$). Diğer antijenler bakımından ise arada herhangi bir farklılık tesbit edilememiştir. Makroalbuminüri gelişen vakalarda HLA-A2 ve B8 sıklığı nondiabetik kontrol grubuna göre önemli derecede daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgular klinik proteinüri gelişiminin HLA-A2 antijeni ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada ayrıca, albuminüri ve HLA-A2 arasındaki ilişkinin nefropati gelişimi için predispozan faktörler olarak bilinen diabet süresi, glisemik kontrol ve kan basıncından bağımsız olduğu da gösterilmiştir (7).

Çalışmamızda, normoalbuminürik grup ile nondiabetik kontrol grubu arasında HLA-A2, B8, B12, B44 ve B15 antijenlerinin sıklığı bakımından herhangi bir farklılık gözlenmezken, mikroalbuminürik grupta bu antijenlerin sıklığı kontrol grubuna göre önemli derecede daha yüksek bulundu.

Çalışmamızda HLA-A2 antijeni mikroalbuminüri için en yüksek sensitivite (%80), en yüksek negatif tahmin değeri (%70) ve tanısal doğruluğa (%69); HLA-B8 antijeni en yüksek spesivite (%84) ve pozitif tahmin değerine (%75) sahip bulunmuştur. HLA-DR3/DR4'ün ise sensitivite, spesivite ve tanısal doğruluk değerleri ise düşük bulunmuştur ($p > 0.05$).

Watts ve arkadaşlarının da HLA-A2 pozitifliğinin mikroalbuminüri mevcudiyeti için sensitif fakat spesifik olmadığı bildirilmektedir (7). Ancak HLA-A2 ekspresyonu ile birlikte mikroalbuminüri riskinin yaklaşık 5 kat artmış olması klinik olarak yine de önemli sayılmalıdır. HLA-A2(+)'liği takibinde albuminüri gelişen vakaların sadece bir bölümünü açıklayabilir. Bu da pratik açıdan erken nefropati gelişimi için risk taşıyan hastalara karar vermede HLA-A2 tayininin tek başına yeterli ve garantili olmadığını göstermektedir. Yüksek riskli hastaları belirlemede HLA-A2 ile birlikte mikroalbuminüri için daha spesifik olan HLA-B8 antijeninin araştırılması daha doğru sonuçlar sağlayacaktır.

Çalışmamızda HLA-A2+B8'i birlikte pozitif olan 10 hastanın 9'unda mikroalbuminüri tesbit ettik. A2+B8 birlikteliği mikroalbuminüri hastaların 9'unda (% 30), normoalbuminüri hastaların ise sadece 1'inde (%4) mevcuttu. HLA-A2+B8 antijenleri birlikte değerlendirildiğinde; mikroalbuminüri için sensitivite azalmakla birlikte (%30), spesivite % 96'ya, pozitif tahmin değeri de % 90'a çıkmaktadır. HLA-A2+B8 antijenlerini birlikte taşıyanların büyük çoğunluğunda mikroalbuminüri tesbit edilmiştir. Bu sonuçlar tip I diabetli hastalarda HLA-A2+B8 birlikteliğinin DN gelişimi için büyük bir risk taşıdığını göstermektedir.

Çalışmamızda HLA-A2+B8'i bulunanlarda mikroalbuminüri için RR 10.28 olarak bulunmuştur. Bu da bu antijenleri taşıyanlarda taşımayanlara göre DN gelişme riskinin yaklaşık 10 kat arttığını göstermektedir. Ancak gerek yetersiz metabolik kontrol, gerekse HLA-A2+B8 pozitifliği takibinde albuminüri gelişen vakaların sadece bir kısmını açıklayabilir. Bu da DN oluşumu için bu faktörlerden herbirinin gerekli ancak tek başına yeterli olmadığını göstermektedir.

Çalışmamızda mikroalbuminürik grup ile normoalbuminürik grup arasında kan basıncı, diabet süresi ve HbA1c düzeyi bakımından herhangi bir farklılık bulunmaması, DN için HLA-A2 ve B8 antijen ekspresyonu ile birlikte olan bu riskin kan basıncının düzeyi ve metabolik kontrolden bağımsız olduğunu göstermektedir.

HLA ile ilişkili genetik faktörlerin hangi mekanizma ile DN'ye yol açtığı konusu açık değildir. HLA-sisteminin immün cevapla ilişkisi vardır (12,120) ve nefropati patogenezi de immünolojik mekanizmalarla alakalı olabilir (7,126). Bazı HLA tiplerinin daha şiddetli metabolik defektle birlikte olduğu ve ağır vasküler hasara bu şekilde yol açtığı

düşünülmektedir. Bu konuda insülin antikoru ve immün kompleksler üzerinde de durulmaktadır (12). Komplike diabetik hastalarda dolaşan immün komplekslerin artmış olması ve DN'li hastalarda GBM üzerinde lineer IgG depozisyonunun gösterilmesi bu komplikasyonların immünolojik mekanizmalarıyla oluştuğunu düşündürmektedir (126,127).

Glikolize kollajenin antijenik özellik taşıdığı ve glikolize kollajene karşı oluşan antikoru direkt olarak veya immün kompleksler aracılığı ile glomerül bazal membranı tahrip ettiği de ileri sürülmektedir. bazı kontrolsüz diabetiklerde mikroangiopatinin olmaması antikor teşekkülü için gerekli immün cevabın yetersiz olmasına bağlanmaktadır (30).

Bodansky ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada HLA-B15 ve DR4'ün daha yüksek insülin antikor titresiyile birlikte olduğu tesbit edilmiştir. Ancak hiç insülin almamış hastalarda da mikroangiopatinin görülebilmesi insülin antikorularının patogenetik rolünü şüpheli hale sokmaktadır (9). İmmün kompleksler ile mikroangiopatinin şiddeti arasında ilişki olduğu rapor edilmişse de (9,128), dolaşımı immün kompleks düzeyindeki artışın primer değil, yaygın doku hasarına sekonder olarak geliştiği de öne sürülmektedir (9).

Diabetik nefropatili hastalarda lenfosit subpopülasyonunun normal olduğu, ancak aktivasyon göstergelerinin (CD25, HLA-DR) hiperekspresyonubildirilmektedir (129,130). Aktive+ T lenfositlerinden açığa çıkan endoglikozidaz enziminin GBM'daki heparan sülfatı parçalayarak nefropati patogenesinde rol oynayabileceği ileri sürülmektedir (130).

Diabetik mikroangiopatik komplikasyonlarının patogeneğinde immünolojik faktörlerin rolü konusunda literatürde farklı görüşler mevcuttur. İmmünolojik parametrelerdeki bazı değişikliklerin primer mi yoksa sekonder mi olduğu henüz tam olarak bilinmemektedir (7,9,126,127,129,130).

Diabetik nefropati patogeneğinde HLA-A2'nin özel bir subtipi veya HLA-Class III antijenleri de rol oynayabilir. HLA-A2 antijeninin MHC bölgesinde bulunan başka bir genle dengesiz bağlantısından da söz edilmektedir. DN'ye yatkınlık sağlayan genetik yapının heterojen olduğu ve HLA dışındaki diğer genetik faktörlerin de araştırılması gerektiği bildirilmektedir (7,12).

Diabetik nefropati için ailevi bir yatkınlığın bulunduğu da gösterilmiştir (10). Diabetik kardeşlerden birinde nefropati mevcutsa, ikinci kardeşte nefropati gelişme riskinin önemli

derecede arttığı ve DN'si bulunan kardeşe sahip diabetik bir hastada ileride DN gelişme ihtimalinin normoalbuminürlü bir kardeşe sahip diğer bir hastaya göre 5-10 kat yüksek olduğu bildirilmektedir (10,11,131).

Borch Johnson ve arkadaşları nefropatisi olan ve olmayan tip I diabetli hastaların diabetik kardeşlerinde nefropati prevalansını araştırmışlar ve; yaş, diabet süresi, kan basıncı ve HbA1c düzeyi yönünden gruplar arasında herhangi bir farklılık yokken, nefropatili hastaların diabetik kardeşlerinde DN prevalansının daha yüksek olduğunu (%33'e %10; $p<0.04$) tesbit etmişlerdir (10). Aynı şekilde Seaquist ve arkadaşları da nefropati sıklığını DN'den dolayı renal transplantasyon yapılan hastaların diabetik kardeşlerinde %83, DN'si olmayan hastaların diabetik kardeşlerinde ise % 17 olarak bulmuşlardır ($p<0.001$) (11). Bu bulgular DN'ye duyarlılıkta genetik faktörlerin rol oynadığını göstermektedir. Ancak kardeşlerce paylaşılan ortak çevresel faktörlerin muhtemel rolü de ekarte edilememektedir (10,11).

Esansiyel hipertansiyona genetik yatkınlığın bulunması da DN için muhtemel bir risk faktörü olarak gösterilmektedir. DN'li hastaların ailesinde normoalbuminürik hastaların ailelerine göre daha yüksek kan basıncı değerleri ve daha yüksek esansiyel hipertansiyon sıklığı tesbit edilmiştir (41,42). Oymak ve arkadaşlarınca yapılan bir çalışmada; DN'li 17 hastanın 11'inde (%64), DN'si olmayan 19 hastanın ise sadece 5'inde (%26) ailevi hipertansiyon öyküsü tesbit edilmiştir ($p<0.05$) (132).

Biz de çalışmamızda ailesinde hipertansiyonu olan 17 hastanın 13'ünde (%76) mikroalbuminüri tesbit ettik. Ailevi HT öyküsü olmayan 38 hastanın ise sadece 17'sinde (%44.7) mikroalbuminüri mevcuttu ($Z=2.2$, $p<0.05$).

Diabetik nefropatili hastalarda eritrosit Na^+/Li^+ karşı transport aktivitesinin arttığı tesbit edilmiştir (41,133). Ancak bu artışın DN için prediktör olmaktan ziyade nefropatinin bir sonucu olduğu da belirtilmektedir (131).

IDDM'li erkeklerde kadınlara göre renal yetersizliğin daha sık geliştiği bildirilmektedir (12,43). Ancak biz çalışmamız da normoalbuminürik grup ile mikroalbuminürik grup arasında cinsiyet yönünden bir farklılık bulamadık.

Sigara içilmesinin de nefropati progresyonu için ilave bir risk faktörü olduğu ileri

sürülmektedir (121,134). Walton ise DN ile sigara arasında herhangi bir ilişki olmadığını bildirmektedir (14). Biz çalışmamızda sigara konusunu araştırmadık.

IDDM'li siyah hastalarda beyazlara göre DN gelişme riskinin daha yüksek olduğu ve bu durumun bazı HLA antijenlerinin sıklığındaki farklılıkla ilişkili olabileceği de bildirilmektedir (135).

Walton ve arkadaşları nefropatili hastalarda diabetin başlangıç yaşının nefropatisiz gruba göre daha düşük olduğunu tesbit etmişlerdir (14). Bu durum çocukluk ve adolesan dönemde iyi bir metabolik kontrol sağlamanın güçlüğünden kaynaklanıyor olabilir. Çalışmamızda da başlangıç yaşı düşük olanlarda mikroalbuminüri sıklığı daha yüksek bulundu. Diabetin başlangıç yaşı 15'in altında olan 30 hastanın 19 (%63)'unda, başlangıç yaşı 15'in üzerinde olan 25 hastanın ise 11 (%44)'inde mikroalbuminüri tesbit ettik. Oranlar arasındaki farklılık ise önemsizdi ($Z=1.40$, $p>0.05$).

Nefropati prevalansının retinopati ile paralellik gösterdiği ve retinopati bulunmasının nefropati mevcudiyeti veya gelişeceğinin bir göstergesi olduğu bildirilmektedir (7). Watts ve arkadaşları 5 yıl süre ile takip ettikleri 160 hastadan makroalbuminüri gelişen 15 vakanın 13'ünde; makroalbuminüri gelişmeyen 15 kişilik uygun kontrol grubunun ise sadece 4'ünde ilk muayene sırasında retinopati bulunduğunu bildirmektedirler (7).

Biz de çalışmamızda retinopatisi olanlarda mikroalbuminüri prevalansını daha yüksek bulduk. Retinopatisi olan 15 vakanın 12'sinde (%80) mikroalbuminüri mevcutken, retinopatisi olmayan 40 hastanın sadece 18'inde (%45) mikroalbuminüri tesbit edildi ($Z=2.33$, $p<0.05$).

Sonuç olarak; diabet süresi, kan basıncı ve glisemik kontrol yönünden benzer olan normoalbuminürik ve mikroalbuminürik Tip I diabetli hastalar HLA-antijenlerinin sıklığı yönünden karşılaştırıldığında, mikroalbuminüri hastalarda HLA-A2 ve B8 antijenlerinin sıklığı normoalbuminürik gruba göre önemli derecede yüksek bulunmuştur. Bu nedenle Tip I diabetli hastalarda HLA-A2 ve B8 mevcudiyetinin diabetik nefropati gelişimi için büyük bir risk taşıdığı ve yüksek riskli hastaları erken dönemde belirlemede HLA-doku tiplemesinin kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır.

SONUÇ

Bu çalışmada diabet süresi 10 yıldan fazla olan, hipertansiyonu ve klinik proteinürisi bulunmayan Tip I diabetli 55 hastada HLA-antijenleri tayin edilerek nondiabetik sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Ayrıca, Tip I diabetli hastalarda nefropati ve HLA ilişkisini araştırmak amacıyla; 24 saatlik idrar örneklerinde mikroalbuminüri tayini yapılarak başlangıç dönemde nefropatisi olan (mikroalbuminürlü) ve olmayan vakalar HLA antijenlerinin sıklığı yönünden karşılaştırıldı ve aşağıdaki sonuçlar elde edildi.

1-Tip I diabetli hastalarda nondiabetik kontrol grubuna göre HLA-DR3, DR4, DR3/4, A2, B8, B15, B18, ve B44 antijenlerinin daha sık; HLA-DR2, DR5 ve DR7 antijenlerinin ise daha seyrek olduğu tesbit edildi.

2-Tip I diabet için rölatif risk değeri antijeni olmayanlara göre HLA-DR3/4'ü olanlarda yaklaşık 13, DR4'ü olanlarda 7, DR3'ü olanlarda ise 5 kat daha yüksek bulundu.

3-Tip I diabetli 55 hastanın 30'unda (%54.5) mikroalbuminüri, 25'inde (%45.5) ise normoalbuminüri tesbit edildi.

4-Mikroalbuminürik grup ile normoalbuminürik grup arasında kan basıncı, diabet süresi ve HbA_{1c} düzeyi yönünden önemli bir farklılık tesbit edilemezken, mikroalbuminürlü hastalarda HLA-A2 ve B8 antijenlerinin prevalansı normoalbuminürlü hastalara göre daha yüksek bulundu (%80'e %44, $p<0.01$ ve %40'a %16, $p<0.05$, sırasıyla). HLA-A2+B8 birlikteliği mikroalbuminürlü hastaların 9'unda (%30), normoalbuminürlü hastaların ise sadece 1 (%4)'inde mevcuttu ($p<0.02$). Diğer antijenler bakımından ise iki grup arasında önemli bir farklılık tesbit edilemedi.

5-HLA-A2 antijeni (+) olanlarda, bu antijeni taşımayanlara göre persistan mikroalbuminüri görülme riski 5 kat, B8'i olanlarda 3.5 kat, A2+B8'i olanlarda ise yaklaşık 10 kat daha yüksek bulundu.

6-HLA-A2, B8 ve DR3/4'ü (+) olanlarda ortalama UAE, (-) olanlara göre önemli derecede daha yüksek ($p<0.05$, $p<0.01$ ve $p<0.025$ sırasıyla) bulundu.

7-HLA-A2, B8, B12, B44 ve B15 antijenleri bakımından normoalbuminürik grup ile nondiabetik kontrol grubu arasında önemli bir farklılık gözlenmezken, mikroalbuminürik grupta bu antijenlerin nondiabetik kontrol grubuna göre önemli derecede daha sık olduğu tesbit edildi.

8-HLA-A2 antijeni mikroalbuminüri için en yüksek sensitivite (%80), negatif tahmin değeri (%70) ve tanısal doğruluğa (%69); B8 antijeni ise en yüksek spesivite (%84) ve pozitif tahmin değerine (%75) sahip bulundu.

9-HLA-A2+B8 antijenleri birlikte değerlendirildiğinde ise sensitivite % 30'a düşmekle birlikte, spesivite %96'ya, pozitif tahmin değeri de % 90'a çıkmaktadır.

10-Cinsiyet ve diyabetin başlangıç yaşı yönünden normoalbuminürik ve mikroalbuminürik gruplar arasında herhangi bir farklılık görülmezken; ailevi hipertansiyon öyküsü olanlarda ve retinopatisi olanlarda mikroalbuminüri sıklığı daha yüksek ($p<0.05$ ve $p<0.05$ sırasıyla) bulundu.

Normoalbuminürik ve mikroalbuminürik her iki grupta da ortalama HbA_{1c} düzeyinin yüksek olması nefropati gelişiminde kronik hipergliseminin sorumlu tek faktör olmadığını ve nefropatiye HLA-A2 ve B8 antijenleriyle ilişkili genetik bir yatkınlık zemininde yol açtığını göstermektedir. Bu nedenle HLA-doku tiplemesinin Tip I diyabetle nefropati gelişimi için yüksek risk taşıyan hastaları belirlemede kullanılabileceği sonucuna varıldı.

ÖZET

Diabetik nefropati patogeneğinde HLA ile ilişkili genetik faktörlerin rolünü araştırmak amacıyla; diabet süresi 10 yıldan fazla olan, hipertansiyonu ve klinik proteinürisi bulunmayan Tip I diabetli 55 hastada üriner albumin ekskresyonu ölçümü ve HLA tayini yapılarak, başlangıç döneminde nefropatisi olan (mikroalbuminürik) ve olmayan vakalar HLA antijenlerinin sıklığı yönünden karşılaştırıldı. Üriner albumin ekskresyonu immünopresipitasyon yöntemi ile, HLA antijenleri ise standart NIH lenfositotoksosite tekniği ile tayin edildi.

Tip I diabetli 55 hastanın 30'unda (%54.5) persistan mikroalbuminüri, 25'inde ise (%45.45) normoalbuminüri tesbit edildi. Mikroalbuminürik grup ile normoalbuminürik grup arasında kan basıncı, diabet süresi ve HbA_{1c} düzeyi yönünden önemli bir farklılık görülemezken; mikroalbuminüri hastalarda HLA-A2 ve B8 antijenlerinin prevalansı normoalbuminüri hastalara göre önemli derecede daha yüksek bulundu (%80'e %40, $p<0.01$ ve %40'a %16, $p<0.05$ sırasıyla). HLA-A2+B8 birlikteliği mikroalbuminüri hastaların 9'unda (%30), normoalbuminüri hastaların ise sadece 1'inde (%4) mevcuttu ($p<0.02$). Diğer antijenler bakımından ise iki grup arasında önemli bir farklılık tesbit edilemedi.

HLA-A2 antijeni (+) olanlarda, bu antijeni (-) olanlara göre persistan mikroalbuminüri görülme riski 5 kat, B8'i olanlarda 3.5 kat, A2+B8'i birlikte taşıyanlarda ise yaklaşık 10 kat daha yüksek bulundu.

HLA-A2 antijeninin mikroalbuminüri için en yüksek sensitivite (%80) ve tanısal doğruluk değerine (%69), B8 antijeninin ise en yüksek spesiviteye (%84) sahip olduğu, HLA-A2+B8 antijenleri birlikte değerlendirildiğinde ise spesivitenin %96'ya çıktığı tesbit edildi. Cinsiyet ve diabetin başlangıç yaşı yönünden iki grup arasında herhangi bir farklılık görülmezken; ailevi hipertansiyon öyküsü olanlarda ve retinopatisi olanlarda mikroalbuminüri sıklığı daha yüksek bulundu.

Sonuç olarak; Tip I diabetli hastalarda kan basıncı ve metabolik kontrolden bağımsız olarak HLA A2+B8 birlikteliğinin nefropati gelişimi için büyük bir risk taşıdığı (RR=10) ve yüksek riskli hastaları erken dönemde belirlemede HLA doku tiplemesinden yararlanabileceği sonucuna varıldı.

SUMMARY

The Relationship Between Diabetic Nephropathy (DN) and Human Leukocyte Antigens in Patients with Type I Diabetes Mellitus.

In order to investigate the role of HLA-related genetic factors in the pathogenesis of diabetic nephropathy, we determined urinary albumin excretion (UEA) and HLA-typing in 55 type I diabetic patients who have a duration of diabetes longer than 10 years and have no hypertension or clinical proteinuria, and compared patients with respect to frequency of HLA-antigens. UEA was determined by immunoprecipitation assay and HLA-typing by standard microlymphocytotoxicity test.

Of 55 patients, 30 (54.5 %) had persistent microalbuminuria and 25 (45.5 %) normoalbuminuria. While no statistically significant difference was found in blood pressure, duration of diabetes and HbA1c levels between normoalbuminuric and microalbuminuric groups, HLA-A2 and B8 antigens were found to be significantly increased in microalbuminuric group compared with normoalbuminuric group. Both HLA-A2 and B8 were present in 9 of microalbuminuric patients (30%) and in only 1 of normoalbuminuric patients (4%) ($p < 0.02$). No significant difference was detected in terms of other HLA-antigens.

The relative risk of microalbuminuria associated with expression of HLA-A2, B8 and A2+B8 were 5, 3.5 and 10 times, respectively. For the presence of microalbuminuria, HLA-A2 had the highest sensitivity (80%) and B8 had the highest specificity (84%). Although no difference was found between two groups with respect to sex and age at onset of diabetes, microalbuminuria frequency was significantly high in patients with retinopathy and with a history of hypertension in parent.

As a result, the patients who have HLA-A2 and B8 antigens had a high risk for development of diabetic nephropathy independent of glycaemic state and blood pressure. So, HLA typing may be useful in defining high risk patients for nephropathy in early period of type I diabetes.

KAYNAKLAR

- 1-Friedman EA : Diabetic Nephropathy In : Massry SG, Glasscock RJ (eds.), Textbook of Nephrology (second edition), Battimore-USA, Williams-Wilkins, 1989 : 761, 771.
- 2-Das AK : Diabetic Nephropathy, JAPI 36 : 381-84, 1988.
- 3-Mogensen CE, Schmitz O : The Diabetic Kidney : From hyperfiltration and microalbuminuria to end stage renal failure. The Medical Clinics of North America 72: 1465-1492,1988.
- 4-Mathiesen ER : Microalbuminuria in insulin-dependent diabetes: Strategies to prevent diabetic nephropathy, Nephron 65 : 511-521, 1993.
- 5-Deckert T, Andersen AR, Christiansen JS, Andersen JK : Course of diabetic nephropathy : Fastors related to development. Acta Endocrinol, 97 (Suppl 242) : 14-15, 1981.
- 6-Keen H : Chronic complications of diabetes mellitus (Chapter 16) : In Galloway JA, Potvin JH, Shuman CR (eds.), Diabetes mellitus (Ninth ed), Indianapolis-Indiana, Lilly, 1988 : 278-305.
- 7-Watts GF, Taub N, Gant V, Wilson I, Shaw KM : The immunogenetics of early nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus : Association between the HLA-A2 antigen and albuminuria, QJ Med. 302 : 461-71, 1992.
- 8-Deckert T, Poulsen JE, Larsen M: Prognosis of diabetics with diabetes onset before the age of thirty-one. I Survival, causes of death and complications. Diabetologia 14 : 363-70, 1978.
- 9-Bodansky HJ, Wolf E, Cudworth AG, Dean BM, Nineham LJ, Bottazzo GF et al : Genetic and immunologic factors in microvascular disease in Type I insulin-dependent diabetes, Diabetes. 31 (1) : 70-74, 1982.
- 10-Borch-Johnsen K, Norgaard K, Nommel E, Mathiesen ER, Jensen JS, Deckert T, Parving HH : Is diabetic nephropathy an inherited complication?. Kidney Int. 41 : 719-722, 1992.
- 11-Seaquist ER, Goetz FC, Rich S, Barbosa J: Familial clustering of diabetic kidney disease. Evidenc for genetic susceptibility to diabetic nephropathy. N Engl J Med 320 : 1161-1165, 1989.
- 12-Barbosa J, Saner B : Do genetic factors play a role in the pathogenesis of diabetic microangiopathy?. Diabetologia 27 : 487-492, 1984.
- 13-Christy M, Anderson AR, Nerup J, Platz P, Ryder L, Thomsen L, Morling M,

- Svejgaard A : HLA-DR typing in Longstanding IDDM with and without nephropathy-evidence for heterogeneity?. *Diabetologia* 21 : 259, 1981.
- 14-Walton C, Dyer PA, Davidson JA, Harris R, Mallick NP, Oleesky S : HLA antigens and risk factors for nephropathy in type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 27 : 3-7, 1984.
- 15-Pitkanen E, Kuhlback B, Tiilikainen A, Lokki, ML, Karkkainen J : HLA-Antigen distribution in juvenile diabetics with end-stage nephropathy. *Ann Clin Res.* 13 (2) : 91-5, 1981.
- 16-Svejgaard A, Jakobsen BK, Platz P et al : HLA associations in insulin-dependent diabetes : search for heterogeneity in different groups of patients from a homogeneous population. *Tissue antigens* 28 : 237-244, 1986.
- 17-Saner B, Bonney E, Barbosa J : HLA-DR antigens and diabetic nephropathy. *Diabetologia* 25 : 452, 1983.
- 18-Jervell J, Solheim B : HLA-antigens in long-standing insulin-dependent diabetics with terminal nephropathy and retinopathy with and without loss of vision. *Diabetologia* 17 : 391, 1979.
- 19-Poortmans J, Dorchy D, De Maertellaer V : Subclinical proteinuria in type I diabetic children and adolescents: relationship to duration of diabetes, metabolic control, HLA-DR type, retinopathy and neuropathy. *Diabetic nephropathy* 3 : 123-126, 1984.
- 20-Myers BD : Diabetes and the kidney In : Wyngaarden JB, Smith LH, Bennett JC (eds), *Cecil Textbook of Medicine* (19th ed), WB Saunders Company, 1992 : 590-93.
- 21-Shuman CR : Diabetes Mellitus : Definition, Clasification and Diagnosis (Chapter 1), In : Galloway JA, Potvin JH, Shuman CR (eds), *Diabetes Mellitus*, Indionapolis-Indiana, Lilly, 1988 : 2-13.
- 22-Akalın S : Diabetes Mellitus'un Kliniği; Gedik O. (Ed), *Diabetes Mellitus*, Ankara, Güneş Kitabevi. 1989 : 1-14.
- 23-Hostetter TH : Diabetic Nephropathy. In : Brenner BM, Rector FC (Eds), *The Kidney* (Fourth ed), WB Saunders Company, Philadelphia-USA, 1991; 1695-172.
- 24-Friedman EA : Diabetic Nephropathy : Strategies in prevention and management. *Kidney Int.* 21 : 780-791, 1982.
- 25-Tung P. et al : Nephropathy in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Am. J Med* 85 : 131-136, 1988.

- 26-Anderson AR. et al : Diabetic nephropathy in type I diabetes : An epidemiological study. *Diabetologia* 25 : 496-501, 1983.
- 27-Mogensen CE : Microalbuminuria as a predictor of clinical diabetic nephropathy. *Kidney Int.* 31 : 673-689, 1987.
- 28-Cohen MP : Glomerular metabolism in experimental diabetes. *Diabetic Nephropathy* 5 : 4-6, 1986.
- 29-Şenel Z, Aksoy F : Diabetes Mellitusun ge komplikasyonlarının patogenezi. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi.* 10 (3) : 202-205, 1990.
- 30-Sözen T : Diabetes mellitusun dejeneratif komplikasyonları, Gedik O (Ed.), *Diabetes mellitus*, Ankara, Güneş kitabevi, 1989 : 92-140.
- 31-Schrier RW, Holzgreve H : Hemodinamic factors in the pathogenesis of diabetic nephropathy, *Klin Wochenschr.* 66 : 325-331, 1988.
- 32-Pyke DA : Diabetes and heredity (Chapter 2), In : Galloway JA, Potvin JH, Shuman CR (eds), *Diabetes Mellitus*, Indianapolis-Indiana, Lilly, 1988 : 16-26.
- 33-Feldman JM : Pathophysiology of diabetes mellitus (chapter 3) : In Galloway JA, Potvin JH, Shuman CR (eds.), *Diabetes Mellitus*, Indianapolis-Indiana, Lilly 1988 : 28-44.
- 34-Dahl-Jorgensen K, Bjoro T, Kierulf P, Sandvik L, Bangstad HJ, Hanssen KF : Long term glycemc control and kidney function in insulin-dependent diabetes mellitus. *Kidney Int.* 41 : 920-923, 1992.
- 35-Meta-analysis of effects of intensive blood-glucose control on late complications of type I diabetes. *Lancet* 341 : 1306-1309, 1993.
- 36-Hanssen KF : How tight must blood glucose control be to prevent diabetic nephropathy? *Nephrol Dial Transplant* 9 : 226-227, 1994.
- 37-Türkmen F ve ark. : Diabetes mellitusta biyokimyasal değişiklikler ve komplikasyonlar, *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 10 (1) : 1-8, 1990.
- 38-Shimomura H, Spiro RG : Decreased levels of heparan sulfate proteoglycan and laminin, *Diabetes* 36 : 374-81, 1987.
- 39-Deckert T : Nephropathy and caronary death the fatal twins in diabetes mellitus, *Nephrol Dial Transplant.* 9 : 1069-1071, 1994.
- 40-Hopper AH, Tindall H, Davies JA : Administration of aspirin-dipyridamole reduces proteinuria in diabetic nephropathy, *Nephrol Dial Transplant.* 4 : 140-143, 1989.

- 41-Viberti GC, Keen H, Wiseman MJ : Raised arterial pressure in parents of proteinuric insulin dependent diabetics. *Br Med J.* 295 : 515-517, 1987.
- 42-Krolewski AS, Canessa M, Warram JH et al : Predisposition to hypertension and susceptibility to renal disease in insulin-dependent diabetes mellitus *N Engl J Med.* 318-140-145, 1988.
- 43-Williams JD, Griffiths D : The kidney and systemic disease (chapter 6) In: Williams JD, Asscher AW, Maffat DB, Sanders E. *Clinical Atlas of the Kidney*, Gower Medical Publishing, London-New York, 1990 : 6.2-6.7
- 44-Koçak N : Şeker hastalığında böbrek, San A (ed). *Nefrolojide yenilikler sempozyumu*, Atatürk Üniversitesi matbaası, Erzurum 1985. 270-287.
- 45-Parving HH et al : Early detection of patients at risk of developing diabetic nephropathy. A longitudinal study of urinary albumin excretion. *Acta Endocrinologica* 100: 550-55, 1982.
- 46-Andreoli TE. et al : Renal vascular and glomerular diseases, In : Carpenter CJ, Plum F, Andreoli TE, Smith LH (eds), *Cecil essentials of medicine* (second ed.), WB Saunders Company, 1990 : 225-230
- 47-Mogensen CE. et al : The stages in diabetic nephropathy : with emphasis of the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes* 32 (suppl 2) : 64-78, 1983.
- 48-Mogensen CE : Hypertension in diabetes and the stages of diabetic nephropathy. *Diabetic nephropathy* 1 (4) : 2-7, 1982.
- 49-San A, Gök H : Diabet ve böbrek, *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi.* 4 (1) : 21-28, 1984.
- 50-Hostetter TH. et al : The case for intrarenal hypertension in the initiation and progression of diabetic and other glomerulopathies. *Am J Med* 72 : 375-380, 1982.
- 51-Mathiesen ER, et al : Prevalance of microalbuminuria in children with type I diabetes mellitus. *Diabetologia* 29 : 640-643, 1986.
- 52-Mogensen CE, Christensen CK : Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N Engl J Med.* 311 : 89-93, 1984.
- 53-Mogensen CE: Microalbuminuria and incipient diabetic nephropathy. *Diabetic Nephropathy.* 3 : 75-78, 1984.
- 54-Viberti GC. et al : Microalbuminuria : Its history and potential for prevention of clinical nephropathy in diabetes mellitus. *Diabetic nephropathy.* 3 : 79-81, 1984.

- 55-The Kroc Collaborative Study Group : Blood glucose control and the evaluation of diabetic retinopathy and albuminuria : A preliminary multicenter trial. *N Engl Med* 311 : 365-71, 1984.
- 56-Rasmussen FB. et al : Effect of 2 years of strict metabolic control on the progression of incipient diabetic nephropathy in insulin dependent diabetes. *Lancet* 1 : 1300, 1986.
- 57-Wiseman MJ et al : Glycemia, arterial pressure and microalbuminuria in type I diabetes mellitus. *Diabetologia*. 26 : 401-405, 1984.
- 58-Parving HH, Anderson AR et al : Diabetic nephropathy and arterial hypertension : The effect of antihypertensive treatment. *The diabetes* 32 (suppl 2) 83-87, 1983.
- 59-Parving HH et al : Early antihypertensive treatment reduces rate of decline in kidney function in diabetic nephropathy. *Lancet* 1 : 1175-1178, 1982.
- 60-Viberti G et al : Metabolic control and progression of diabetic nephropathy. *Diabetologia*. 30 : 481-482, 1987.
- 61-Gilbert RE, Tsalamandris C, Bach LA. et al : Long-term glycemc control and the rate of progression of early diabetic kidney disease. *Kidney Int*. 44 : 855-89, 1993.
- 62-Reddi AS, Camerini Davalos RA : Diabetic nephropathy. *Arch Int Med*. 150 : 31-43, 1990.
- 63-Christiansen JS, Parving HH et al : Kidney function and size in diabetics before and during initial insulin treatment. *Kidney Int*. 21 : 683-88, 1982.
- 64-Wiseman MI. et al : Effect of blood glucose control on increased GFR and kidney size in insulin-dependent diabetes. *N Engl J med*. 312 : 617-21, 1985.
- 65-Parving HH : Clinical experience in the treatment of diabetic renal disease (type I and 2) : Summary and concluding remarks. *Kidney Int*. 45 (suppl 45) : 165-66,1994.
- 66-Viberti GC : Outcome variables in the assessment of progression of diabetic kidney disease. *Kidney Int*. 45 (suppl 45) : 121-124, 1994.
- 67-Mogensen CE : Long-term antihypertensive treatment inhibiting progression of diabetic nephropathy. *Br Med J*. 285 : 688-88, 1982.
- 68-Breyer JA, Hunsicker LG, Bain RP et al : Angiotensin converting enzyme inhibition in diabetic nephropathy. *Kidney Int*. 45 (suppl-45). 156-160, 1994.
- 69-Bjork S. et al : Beneficial effects of angiotensin converting enzyme inhibition on renal function in patients with diabetic nephropathy. *Br Med J*. 293 : 471-74, 1986.
- 70-Heeg JE. et al : Antiproteinuric effect of ACE inhibitors. *Lancet* 26 : 1251-52, 1988.

- 71-Viberti GC : Low-protein diet and progression of diabetic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 3 : 334-39, 1988.
- 72-Amair P. et al : CAPD in diabetics with end stage renal disease. *Peritoneal Dialysis-Bulletin* 2 : 6-11, 1982.
- 73-Goetz FC, Elick B, Fryd D, Sutherland DER : Renal transplantation in diabetes. *Clin Endocrinol metab.* 15 : 807-821, 1986.
- 74-Cosimi AB. et al : Combined kidney and pancreatic transplantation in diabetics. *Arch-Surg* 123 (5) : 621-625, 1988.
- 75-Bosi E. et al : Simultaneous kidney and pancreas transplantation. *Diabetic Nephropathy.* 3 : 49-53, 1984.
- 76-Sönmez GS : Böbrek hastalarında diyaliz ve transplantasyon öncesi kan grupları ve HLA-doku tipi antijenlerinin değerlendirilmesi, Yüksek lisans tezi, İstanbul-1986 : 10-18.
- 77-Schwartz BD : The human major histocompatibility human leukocyte antigen (HLA) complex In : Stites DP, Terr AI (eds), *Basic and clinical immunology* (seventh ed.), Appleton-Lange, 1991 : 45-60.
- 78-Bender K : HLA System, *Biotest Bulletin.* 2 (2) : 1984; 61-131.
- 79-Hamamizade NM : HLA-DR tiplemesi için gerekli B lenfositlerinin monoklonal antikorlar ve rozet testi ile elde edilmesi ve HLA-DR tiplemesi üzerine etkilerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, İstanbul-1988 : 13-17.
- 80-Owen M : Major Histocompatibility Complex. In : Roit IM, Brostoff J, Male DK (eds), *Immunology* (second ed), Gower Medical Publishing, New York-USA, 1989 : 4.1-4.12.
- 81-Carroll MC. et al : A molecular map of the human major histocompatibility complex class III region linking complement genes C4,C2, and factor B. *Nature* 307, 1984 : 237.
- 82-Braun WE : Molecular, genetic and clinical aspects of the HLA system (Chapter 9). In : Cerilli GJ (ed), *Organ transplantation and replacement* 1989 : 162, 195.
- 83-Dausset J, Cohen D : HLA at the gene level. In : Albert ED, Braun MP, Mayr WR (eds) : *Histocompatibility testing*, Springer-Verlag, Berlin-1984 : 22-28.
- 84-Katz DV, Mickey MR, Cecka M et al : The immune response and HLA. In : Terasaki PI (ed): *Clinical Kidney Transplants*, UCLA Tissue Typing laboratory-Los Angeles, 1985 : 205-215.
- 85-National Institute of Health Transplantation and Immunology branch staff : NIH lymphocyte microcytotoxicity technique, In : *Manual of Tissue Typing techniques.* Ray JG (ed). NIH publication, USA, 1979: 39.

- 86-Bodmer J, Pickbourne P, Richard S. In : Histocompatibility testing, Munksgaard-Copenhagen, 1977 : 35-84.
- 87-Kissmeyer-Nielsen F, Kjerbye KE : Lymphocytotoxic microtechnique. Purification of lymphocytes by flotation. In : Histocompatibility Testing, Munksgaard-Copenhagen, 1967 : 381-383.
- 88-Terasaki PI, Bernoco D, Park MS, Oztürk G, Iwaki Y : Microdroplet testing for HLA-A,-B,-C and -D antigens. *Am J Clin Pathol.* 69 : 103-120, 1978.
- 89-Colombe BW : Histocompatibility testing. In : Stites DP, Terr AI (eds), *Basic and clinical immunology* (seventh ed), Appleton-Lange, 1991, 295-311.
- 90-Lowry R, Goguen J, Carpenter CB, Strom TB, Garovoy MR : Improved B cell typing for HLA-DR using nylonwool column enriched B lymphocyte preparations. *Tissue Antigens* 14 (4) : 325-30, 1979.
- 91-Madsen M, Johnsen HE, Hadsen PW, Christiansen SE : Isolation of human T and B lymphocytes by E-rosette gradient centrifugation. Characterization of the isolated subpopulations. *J Immunol Methods.* 33 (4) : 323-36, 1980.
- 92-Bohnhoff C, Sawser T, Blair A, Senitzer D : Isolation of B lymphocytes for HLA-DR typing using monoclonal antibodies. *J Immunol methods.* 91 : 175-80, 1986.
- 93-Lea T, Vartdal F, Davies C, Ugelstad J : Magnetic monosized polymer particles for fast and specific fractionation of human mononuclear cells. *Scand J Immunol.* 22 : 207-216, 1985.
- 94-Vartdal F, Gaudernack G, Funderut S, Bratlie A, Lea T, Ugelstad J, Thorsby E : HLA class I and II typing using cells positively selected from blood by immunomagnetic isolation : A fast and reliable technique. *Tissue Antigens.* 28 : 301-312, 1986.
- 95-Immunomagnetic separations dynabeads^R, Technical manuel, Dynal AS, Oslo-Norway, 1989.
- 96-Savran F, Çarın M : Böbrek transplantasyonlarında PCR-SSP tekniği ile HLA-D (DRB1, DQB1) genotiplemeesi, XI.Ulusal Böbrek Hastalıkları, Diyaliz ve Transplantasyon Kongresi. 11-14 Ekim 1994, Samsun , özet kitabı, s :64.
- 97-Albrechtsen D, Bratlie A, Kiss E et al : Significance of HLA matching in renal transplantation. *Transplantation.* 28 : 280, 1979.
- 98-Swartz BD : The human histocompatibility HLA-complex. In : Stites DP, Terr AI (eds). *Basic Clinical Immunology* (six ed.), Apleton-Lange, 1987, 50-64.

- 99-Büyük Devrim SA : Tip I diabetes mellitusun fizyopatolojisi, Gedik O (ed) Diabetes Mellitus. Ankara-Güneş kitabevi, 1989 : 18-33.
- 100-Barnett AH, Eff C, Leslie RDG, Pyke DA : Diabetes in identical twins. A study of 200 pairs. Diabetologia 20 : 87, 1981.
- 101-Gorsuch AN, Spencer KM, Lister J et al : Can future type I diabetes be predicted? A study in families of affected children. Diabetes 31-862, 1982.
- 102-Çorakçı A, Gök EAM : Tip I diabetin etyopatogenezi. Türkiye Klinikleri-Tıp Bilimleri Dergisi 8 (2) : 94-96, 1988.
- 103-Platz P, Jakobsen BK, Morling N, Ryder RP et al : HLA-D and-DR antigens in genetic analysis of insulin dependent diabetes mellitus. Diabetologia 21 : 108-115, 1981.
- 104-Wolf ET, Tuomilehto J, Cepaitis Z et al : New susceptibility haplotype for type I diabetes, The lancet, August 5 : 299-302, 1989.
- 105-Wolf E, Spencer KM, Cudworth AG : The genetic susceptibility to type I diabetes. Analysis of the HLA association. Diabetologia 24 : 224, 1983.
- 106-Kahn CR : Autoimmunity and the aetiology of insulin dependent diabetes mellitus. Nature 299 : 15, 1982.
- 107-Parving HH et al : Prevalance of microalbuminuria, arterial hypertension, retinopathy and neuropathy in patients with insulin dependent diabetes Br Med J. 296 : 156-160, 1988.
- 108-Dynabeads^R M-450, Technical book, Tissue Typing, Dynal AS, Oslo-Norway, 1990.
- 109-Vartdal F et al : Microcytotoxic HLA typing of cells directly isolated from blood by means of antibody-coated microspheres. Transplantation Proceeding, 1987; XIX : 655-57.
- 110-Van Lambaigen R, Bradley AB : Investigations in tothe principles underlying the automatic reading of tissue typing plates by double floorochromasia. Tissue Antigens. 26 : 87-99, 1985.
- 111-Sönmez G, Sever MŞ, Akar U, Çarın M ve ark. : Türk toplumunda son dönem böbrek hastalarının HLA doku tipi antijenlerinin değerlendirilmesi. X.Ulusal Böbrek Hastalıkları Diyaliz ve Transplantasyon Kongresi. Bursa, 19-22 Ekim 1993 (poster).
- 112-Henjr JB: Interpreting laboratory results : Reference values and decision making. In : Winkel P.(ed). Clinical diagnosis and management by laboratory methods (18th edition) WB Saunders Company-Philadelphia. 1991 : 48-67.

- 113-Anderson AR et al : Diabetic nephropathy in type I diabetes : An epidemiological study. *Diabetologia* 25; 496-501, 1983.
- 114-Raskin P, Rosenstock J : Blood glucose control and diabetic complications. *Ann Intern Med.* 105 : 254-263, 1986.
- 115-The diabetes control and complication trial, *N Engl J Med.* 329 : 683-689, 1993.
- 116-San A : Diabetic nefropati ve evreleri, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Kronik Böbrek Hastalıkları Tedavi Vakfı. Vakıf yayın No: 10, Erzurum, 1987.
- 117-Selbry JV : Diabetik nefropatinin doğal seyri ve epidemiyolojisi, *Gelişim JAMA.* 3 (9) : 864-72, 1990.
- 118-Yılmaz MT : HLA sistemi ve tip I diabetes mellitus, Hatemi H (ed). *Diabetes Mellitus*, Yüce Matbaacılık, İstanbul-1988 : 171-173.
- 119-Johnston C, Pyke DA, Cudworth AG, Wolf E : HLA-DR typing in identical twins with insulin-dependent diabetes: difference between concordant and discordant pairs. *Br Med J* 286 : 253-54, 1983.
- 120-Barnett AH, Pyke DA : The genetics of diabetic complications. *Clin Endocrinol Metab.* 15 : 715-716, 1986.
- 121-Gray RS, Starkey IR, Rainbow S et al : HLA antigens and other risk factors in the development of retinopathy in type I diabetes. *Br J ophthalmol.* 66 : 280-85, 1992.
- 122-Dornan T, Ting A, Mc Pherson C et al : Genetic susceptibility to the development of retinopathy in insulin-dependent diabetes. *Diabetes* 31 : 226-231, 1982.
- 123-Salardi S, Cocciari E, Pascucci MG et al : Microalbuminuria in diabetic children and adolescent: Relationship with puberty and growth hormone. *Acta Paediatr Scand.* 79 (4) : 437-43, 1990.
- 124-Barbosa J, Noreen H, Emme L et al: HLA-Antigens and diabetic microangiopathy. *Tissue Antigens.* 7 (4) : 233-37, 1976.
- 125-Barbosa J : Is diabetic microangiopathy genetically heterogeneous ? HLA and diabetic nephropathy, *Horm Metab Res Suppl.* 11 : 77-80, 1981.
- 126-Irvine WJ, Di Mario U, Guy K et al : Immune complexes and diabetic microangiopathy. *J Clin Lab Immunol.* 1 : 187-9, 1978.
- 127-Westberg NG, Michael AF : Immunohistopathology of diabetic glomerulosclerosis. *Diabetes* 21 : 163-74, 1972.

- 128-Di Mario U, Lavicoli M, Andreani D : Circulating immune complexes in diabetes
Diabetologia 19 : 89-92, 1980.
- 129-Bending JJ, Lobo-Yeo A, Vergani D, Viberti GC : Proteinuria and activated
T-lymphocytes in diabetic nephropathy. Diabetes 37 (5) : 507-11, 1988.
- 130-Salazhin KV, Nosonov EL, Sura VV : The cellular immunity indices in diabetic
nephropathy. Ter Arkh. 63 (6) : 55-8, 1991.
- 131-Borch-Johnsen K : Epidemiology of microangiopathy in type I diabetes mellitus.
Diabete-Metabolism. 19 : 133-137, 1993.
- 132-Oymak O, Gürlek A, Erdem Y ve ark : Tip I diabeti olan hastalarda diabetik nefropati
gelişiminde ailevi hipertansiyon öyküsünün önemi. XI.Ulusal Böbrek Hastalıkları,
Diyaliz ve Trasplantasyon Kongresi. Samsun, 11-14 Ekim 1994, özet kitabı, s :44.
- 133-Mangili R, Bending JJ, Scot G, Lai KL et al : Increased sodium-lithium
countertransport activity in red cells of patients with insulin-dependent diabetes and
nephropathy. N Engl J Med. 318 : 146-150, 1988.
- 134-Chase HP, Garg SK, Marshall G et al : Cigarette smoking increases the risk of
albuminuria among subjects with type I diabetes. JAMA. 265 : 614-17, 1991.
- 135-Freedman BI, Espeland MA, Heise ER, Evans J, Canzanella VJ : Racial variation in
human leukocyte antijen frequency in insulin-dependent diabetic nephropathy. J Am Soc
Nephrol. 3 (8) : 1467-73, 1993.

EK I : NORMOALBUMİNÜRİK HASTALAR (n=25)

No	AS.	Prot.	Cins	Yaş	VA	D.stüresi	Kreatinin.	HbA1c	UAE	OAB	Retinopati	A.D.	A.HT	D.B.Y
1	R.A	8446	E	48	60	23	0.9	13.7	10	97	+	-	-	25
2	M.T	2515	E	28	50	16	1.0	14.5	8	93	-	-	-	12
3	H.A.	2706	E	15	38	11	0.7	10.6	18	83	-	-	-	4
4	H.Ç.	12044	E	16	59	10	0.9	8	12	97	-	-	-	6
5	F.Ç.	3185	E	15	50	10	1.2	10.8	10	90	-	+	+	8
6	Y.A.	2798	E	23	55	13	0.5	9.0	8	93	-	-	-	5
7	O.G.	17491	E	22	65	11	1.2	12.0	21	97	-	-	-	11
8	S.Y	-	K	32	49	16	0.6	10.8	19	107	-	-	-	16
9	G.Ö	6859	K	35	56	10	0.9	7.9	16	90	-	-	-	25
10	N.A.	-	K	32	54	24	1.1	10.8	4	107	-	+	-	8
11	N.T.	-	K	22	58	16	1.4	13.6	6	95	+	-	-	6
12	M.K.	5635	E	36	50	19	0.8	12.0	10	90	-	-	+	17
13	C.A	6883	E	19	44	14	0.7	8.5	12	97	-	-	-	5
14	N.B.	-	E	26	50	10	0.6	11.6	20	107	-	-	-	16
15	N.S.	8031	K	26	58	17	0.9	14.0	22	85	+	+	+	9
16	N.K.	-	K	34	62	16	1.3	9.0	15	97	-	-	-	18
17	M.I.	11308	E	26	56	10	1.0	8.2	12	90	-	-	-	16
18	Y.C.	-	K	31	60	14	1.1	11.4	8	90	-	-	-	17
19	H.V.	7453	K	40	85	12	1.0	12.0	6	95	-	-	-	28
20	Y.T.	-	K	38	56	11	1.2	7.9	5	90	-	-	-	27
21	N.G.	8554	E	40	54	12	0.8	10.0	16	97	-	-	+	28
22	S.K.	5471	K	35	83	16	0.7	13.5	10	97	-	-	-	19
23	M.K.	5635	E	26	45	10	0.6	10.0	4	90	-	-	-	16
24	F.K.	9601	K	40	62	11	1.0	11.0	15	87	-	-	-	29
25	N.S.	11910	K	15	48	10	0.7	10.0	11	83	-	+	-	5

AS : Adı soyadı, VA : Vücut ağırlığı, OAB : Ortalama arteryel basınç,
AD : Ailede diyabet, A.HT : Ailede hipertansiyon, DBY : Diyabetin başlangıç yaşı

EK II : MİKROALBUMİNÜRİK HASTALAR (n=30)

No	AS.	Prot.	Cins	Yaş	VA	D.süresi	Kreatinin.	HbA1c	UAE	OAB	Retinopati	A.D.	A.HTD.	B.Y
1	H.K.	3899	K	33	52	11	0.9	12	164	90.6	+	-	-	22
2	H.T.	4446	K	19	52	12	1.1	14	103	83.0	+	-	+	7
3	E.B.	-	E	23	70	14	1.0	13	77	90	+	-	-	9
4	A.E.	15669	K	25	48	15	1.2	14	192	97	+	-	+	10
5	B.A.	-	K	18	58	11	0.7	9	98	97	-	-	-	7
6	İ.D.	387	E	32	60	16	0.9	9	175	103	+	-	+	16
7	G.E.	673	K	25	49	16	1.1	15	131	110	+	-	-	9
8	İ.T.	16816	E	24	90	14	1.1	13	183	90	-	+	+	10
9	A.K.	2809	E	46	80	25	1.3	10.4	91	107	+	-	-	21
10	F.Ö.	1856	E	21	58	13	0.8	12.5	70	97	-	-	+	8
11	A.K.	3434	E	40	58	15	1.2	12.6	220	80	+	-	-	25
12	T.K.	-	E	32	65	20	1.0	14	168	90	-	+	+	12
13	A.D.	3761	K	30	44	16	0.6	10.6	75	83	-	-	-	14
14	B.K.	5435	E	45	87	18	1.2	11.9	157	97	+	-	+	27
15	A.A.	149	E	16	50	10	1.0	7.9	36	83	-	-	-	6
16	G.U.	-	K	32	61	16	0.7	12.2	175	97	-	-	+	16
17	E.K.	-	E	18	34	14	0.8	11.5	37	90	-	-	-	4
18	Ç.E.	7865	K	14	32	12	0.8	13.6	151	97	-	+	-	2
19	G.A.	-	K	37	86	18	1.0	9	39	103	-	+	+	19
20	N.Y.	-	E	40	70	11	1.2	10.8	42	90	-	-	-	29
21	A.S.	-	E	37	69	13	1.1	7.8	150	97	-	-	-	24
22	M.Y.	-	E	47	73	18	1.2	8.5	200	100	+	+	+	29
23	A.A.	6336	E	21	60	11	0.9	9.0	255	90	-	-	-	10
24	E.S.	6836	E	26	55	13	1.2	8.7	230	87	-	-	-	13
25	R.B.	72281	K	21	55	11	0.8	10.7	120	90	+	-	+	10
26	V.T.	-	E	22	60	10	0.7	8.5	150	97	-	-	-	12
27	B.Ç.	-	K	28	46	14	0.8	13.6	180	90	-	-	-	14
28	Y.K.	-	K	29	76	12	1.0	9.2	160	90	-	+	+	17
29	N.S.	8031	K	22	55	10	1.1	8.0	190	97	-	-	-	12
30	M.S.	3240	K	17	48	11	0.9	10	140	97	+	-	+	6

AS : Adı soyadı, VA : Vücut ağırlığı, OAB : Ortalama arteriyel basınç,
AD : Ailede diyabet, A.HT : Ailede hipertansiyon, DBY : Diyabetin başlangıç yaşı

EK III : Normoalbuminürili Hastaların HLA-Doku Grupları

	A	B	C	DR ve DQ
1	A1, A24(9)	B52(5), B16, Bw4	Cw2	DR1, DR3, DR52, DQw1
2	A2, A25(10)	B12, B18, Bw6	Cw4	DR2, DR5(11), DR52, DQw1
3	A2, A23(9)	B35, B51(5), Bw4, Bw6	Cw2	DR3, DR4, DR52, DR53
4	A3, A30	B8, B15, Bw4, Bw6	Cw4	DR3, DR5, DR52, DQ2
5	A2, A28	B44(12), B49(21), Bw4	Cw1	DR4, DR5, DR52, DR53, DQ3
6	A1, A26(10)	B35, B51(5), Bw4, Bw6	Cw4	DR3, DR4, DR52, DQ2
7	A3, A30	B7, B27, Bw4, Bw6	Cw4	DR7, DR9, DR53, DQ2
8	A2, A24(9)	B8, B49(21), Bw4, Bw6	Cw5	DR3, DR4, DR53,
9	A1, A31	B5, B14, Bw4, Bw6	Cw7	DR4, DR9, DR53, DQ3
10	A2, A28	B13, B18, Bw6	Cw2	DR4, DR10, DR53
11	A1, A26 (10)	B8, B16, Bw4, Bw6	Cw4	DR1, DR3, DR52, DQw1
12	A3, A30	B40, B51(5), Bw4, Bw6	Cw5	DR3, DR4, DR52, DR53
13	A2, A28	B13, B27, Bw4	Cw3	DR4, DR10, DR53
14	A3, A26(10)	B8, B44(B12), Bw4, Bw6	Cw6	DR3, DR8, DR52, DQ2
15	A2, A28	B18, B51(5), Bw4, Bw6	Cw3	DR4, DR7, DR53,
16	A1, A29	B14, B35, Bw6	Cw5	DR3, DR4, DR52, DQ3
17	A24(9), A29	B13, B18, Bw6	Cw3	DR1, DR8, DQw1
18	A2, A28	B35, B51(5), Bw4	Cw4	DR3, DR4, DR52, DR53
19	A24(9)	B21, B44(B12), Bw4	Cw3	DR4, DR5(DR11), DR52,
20	A1, A31	B16, B40, Bw6	Cw4	DR3, DR4, DR52
21	A2, A11	B5, B18, Bw4, Bw6	Cw5	DR4, DR7, DR53
22	A1, A31	B15, B35, Bw4, Bw6	Cw3	DR3, DR4, DR52, DQ2
23	A2, A11	B17, B35, Bw4, Bw6	Cw4	DR3, DR4, DR53, DQ3
24	A24(9)	B15, B18, Bw4, Bw6	Cw4	DR4, DR5(DR11), DR53
25	A2, A11	B16, B35, Bw4, Bw6	Cw6	DR3, DR4, DR52, DR53

EK IV : Mikroalbuminürili Hastaların HLA-Doku Grupları

	A	B	C	DR ve DQ
1	A1,A24(9)	B8, B17, Bw4, Bw6	Cw3	DR3, DR4, DR53,
2	A2,A10	B35, B51(5), Bw4, Bw6	Cw1	DR2, DR9, DR53, DQ1
3	A2,A30	B44(12), B49(21), Bw4,	Cw4	DR3, DR4, DR52, DR53
4	A11, A23(9)	B8,B18,Bw6	Cw2	DR3, DR4, DR53
5	A2, A28	B35, B52(5), Bw4	Cw3	DR3, DR4, DR53, DR53
6	A2, A24(9)	B8, B18, Bw6	Cw4	DR2, DR11(5), DR52, DQ1
7	A2, A30	B7, B16,Bw4, Bw6	Cw2	DR3, DR4, DR53
8	A2, A24(9)	B35, B44(12), Bw4, Bw6	Cw4	DR3, DR4, DR52, DR53
9	A1,A2	B35, B51(5), Bw4	Cw3	DR3, DR4, DR53
10	A2, A28	B13, B49(21), Bw4	Cw4	DR1, DR5, DR52, DQ1
11	A1, A2	B8, B44(B12), Bw4, Bw6	Cw2	DR3, DR4, DR52, DQ3
12	A1, A3	B35, B51(5), Bw4, Bw6	Cw4	DR1, DR11(5), DR52
13	A2, A24(9)	B12, B13, Bw4, Bw6	Cw3	DR3, DR4, DR52, DQ3
14	A2,A26(10)	B8, B16, Bw4, Bw6	Cw4	DR3, DR4, DR53
15	A2, A3	B49(21), B51(5), Bw4	Cw4	DR4, DR9, DR53
16	A2, A24(9)	B8, B15, Bw4, Bw6	Cw2	DR3, DR4, DR53
17	A2, A31	B8, B21, Bw4, Bw6	Cw4	DR3, DR5, DR52
18	A2, A24(9)	B8, B18, Bw6	Cw3	DR3, DR4, DR52
19	A2, A28	B44(B12), B51(5), Bw4	Cw4	DR1, DR11(5), DR52, DQ1
20	A2, A24(9)	B8, B18, Bw6	Cw4	DR3, DR4, DR52
21	A3, A30	B35, B44, Bw6	Cw3	DR1, DR4, DR53, DQ1
22	A2, A26(10)	B15, B44(B12), Bw4	Cw5	DR3, DR4, DR52
23	A2, A28	B8, B27, Bw4, Bw6	Cw4	DR4, DR7, DR53, DQ3
24	A1,A2	B14, B40, Bw6	Cw5	DR3,DR4, DR52
25	A2, A29	B15, B44(12), Bw6	Cw6	DR4, DR7, DR53, DQ3
26	A1, A26(10)	B40, B51(5), Bw4	Cw7	DR3, DR4, DR52, DQ2
27	A2, A28	B14, B27, Bw4, Bw6	Cw6	DR4, DR7, DR53, DQ3
28	A2, A11	B8, B18, Bw6	Cw5	DR3, DR4, DR53, DQ2
29	A1, A2	B15, B35, Bw6	Cw7	DR3, DR4,DR53, DQ2
30	A1, A3	B8, B16, Bw6	Cw5	DR3, DR4, DR52, DQ3