

Uniwersytet Jagielloński

Collegium Medicum

Wydział Lekarski

Anita Błaut-Szlósarczyk

**Przewlekłe schorzenia przewodu pokarmowego
u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1**

Praca doktorska

Promotor: Prof. dr hab.med. Jerzy Starzyk

Klinika Endokrynologii Dzieci i Młodzieży, Katedry Pediatrii,

Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii w Krakowie

Kierownik jednostki: Prof. dr hab. med. Jerzy Starzyk

Kraków 2010

Mojemu Mężowi i Rodzinie tę pracę dedykuję

***Panu prof. dr hab. med. Jerzemu Starzykowi
z wyrazami wdzięczności
za opiekę naukową i okazaną pomoc
przy realizacji niniejszej pracy***

***Pani dr hab. med. Annie Pituch-Noworolskiej
z serdecznym podziękowaniem
za życzliwość i pomoc na każdym etapie pracy***

Spis treści

1. Wstęp	6
1.1. <i>Patogenetyczne mechanizmy rozwoju schorzeń autoimmunizacyjnych.....</i>	7
1.1.1. Udział czynników genetycznych w rozwoju schorzeń autoimmunizacyjnych	7
1.1.2. Rola czynników immunologicznych w rozwoju schorzeń autoimmunizacyjnych	8
1.2. <i>Nieswoiste zapalenia jelit</i>	10
1.2.1. Definicja i epidemiologia	10
1.2.2. Genetyczne podstawy rozwoju nieswoistych zapaleń jelit	10
1.2.3. Mechanizmy immunologiczne w nieswoistych zapaleniach jelit	11
1.2.4. Markery serologiczne w nieswoistych zapaleniach jelit	13
1.3. <i>Choroba trzewna</i>	14
1.3.1. Definicja, epidemiologia choroby trzewnej	14
1.3.2. Kryteria diagnostyczne oraz postacie choroby trzewnej	15
1.3.3. Patomechanizm rozwoju choroby trzewnej	16
1.3.4. Rola przeciwciał w rozpoznaniu i monitorowaniu choroby trzewnej	17
1.4. <i>Cukrzyca typu 1</i>	18
1.4.1. Definicja, epidemiologia	18
1.4.2. Predyspozycja genetyczna	19
1.4.3. Procesy autoimmunizacyjne w cukrzycy typu 1	20
1.4.4. Znaczenie badań przesiewowych u pacjentów z cukrzycą typu 1	21
2. Cel pracy	23
3. Materiał	24
3.1. <i>Grupa badana</i>	24
3.2. <i>Grupa porównawcza (grupa IV)</i>	27
4. Metody	29
4.1. <i>Metody aukuologiczne</i>	29
4.2. <i>Metody badań laboratoryjnych</i>	29
4.3. <i>Immunofluorescencja pośrednia</i>	30
4.3.1. Interpretacja wyników badań	30
4.4. <i>Wykrywanie przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit oraz choroby trzewnej</i>	31
4.4.1. Przeciwciała charakterystyczne dla wrzodziejącego zapalenia jelita grubego	31
4.4.2. Przeciwciała charakterystyczne dla choroby Leśniowskiego i Crohna	33
4.4.3. Przeciwciała charakterystyczne dla choroby trzewnej	34
4.5. <i>Metody statystyczne</i>	36
5. Protokół badania	37
6. Wykaz zastosowanych skrótów	39
7. Wyniki	40
7.1. <i>Występowanie przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit u chorych z cukrzycą typu 1</i>	40

7.2.	<i>Częstość występowania oraz rodzaj przeciwciał dla nieswoistych zapaleń jelit, a czas trwania cukrzycy</i>	41
7.3.	<i>Analiza obrazu klinicznego, parametrów auksologicznych oraz zapotrzebowania na insulinę w badanych grupach</i>	43
7.3.1.	Objawy kliniczne	43
7.3.2.	Analiza parametrów auksologicznych oraz zapotrzebowania na insulinę w badanych grupach chorych z cukrzycą.....	44
7.4.	<i>Analiza wybranych parametrów laboratoryjnych w poszczególnych badanych grupach pacjentów z cukrzycą oraz w grupie porównawczej</i>	46
7.5.	<i>Występowanie choroby trzewnej u chorych z cukrzycą</i>	52
7.5.1.	Częstość występowania choroby trzewnej oraz przeciwciał dla endomysium u chorych z cukrzycą typu 1	52
7.5.2.	Charakterystyka grupy chorych z cukrzycą i chorobą trzewną.....	53
7.5.3.	Analiza parametrów auksologicznych oraz zapotrzebowania na insulinę w grupie pacjentów z cukrzycą i współistniejącą chorobą trzewną oraz w pozostałej grupie chorych z cukrzycą	56
7.5.4.	Analiza wybranych parametrów laboratoryjnych w grupie pacjentów z cukrzycą i współistniejącą chorobą trzewną oraz w pozostałej grupie chorych z cukrzycą	57
7.5.5.	Zależność między występowaniem przeciwciał przeciw endomysium oraz przeciwciał przeciw <i>Saccharomyces cerevisiae</i> u chorych z cukrzycą i chorobą trzewną.....	59
7.6.	<i>Współwystępowanie schorzeń autoimmunizacyjnych i cukrzycy typu 1</i>	60
8.	Dyskusja	62
8.1.	<i>Współwystępowanie schorzeń autoimmunizacyjnych</i>	63
8.2.	<i>Rola bariery jelitowej w patogenezie cukrzycy typu 1, nieswoistych zapaleniach jelit oraz chorobie trzewnej</i>	67
8.3.	<i>Wartość predykcyjna przeciwciał w schorzeniach autoimmunizacyjnych</i>	68
9.	Wnioski	70
10.	Streszczenie	71
11.	Abstract	73
12.	Piśmiennictwo	75
13.	Spis tabel	92
14.	Spis rycin	94
15.	Spis aneksów	96

1. Wstęp

Podstawową funkcją układu immunologicznego jest zdolność odróżniania antygenów obcych od własnych, będących składnikami danego organizmu. Nieprawidłowa odpowiedź immunologiczna układu immunologicznego w przebiegu której powstają limfocyty T i/lub przeciwciała skierowane przeciw antygenom własnego organizmu, stanowi podstawę zjawiska autoimmunizacji [23,87]. Obecnie znanych jest blisko 70 jednostek chorobowych, w których procesy autoimmunizacyjne odgrywają główną rolę w etiopatogenezie. Rozpoznanie choroby autoimmunizacyjnej wymaga spełnienia poniższych kryteriów:

- wykazanie obecności autoprzeciwciał i/lub aktywnych limfocytów T skierowanych przeciw antygenom danego narządu,
- identyfikacja i izolacja autoantygeny przeciw któremu skierowana jest odpowiedź immunologiczna,
- indukcja czynnościowych oraz morfologicznych zmian w narządach poprzez przeniesienie autoprzeciwciał i/lub aktywnych limfocytów T,
- wykazanie na modelu zwierzęcym po podaniu odpowiedniego antygeny, identycznych zmian patologicznych, jak w schorzeniu obserwowanym u ludzi [118].

Ze względu na pochodzenie autoantygenów (tj. rodzaj tkanek), schorzenia autoimmunizacyjne zostały podzielone na narządowo-swoiste i układowe (narządowo-nieswoiste). W przypadku schorzeń narządowo-swoistych odpowiedź immunologiczna skierowana jest przeciw antygenom zlokalizowanym w określonym narządzie lub tkance. W schorzeniach układowych autoantygen występuje powszechnie w organizmie, a proces chorobowy obejmuje wiele narządów [23,66]. Bezpośrednia przyczyna rozwoju chorób autoimmunizacyjnych nie jest znana, sugeruje się jednak współdziałanie zarówno czynników genetycznych, jak i środowiskowych [23, 31].

1.1. Patogenetyczne mechanizmy rozwoju schorzeń autoimmunizacyjnych

1.1.1. Udział czynników genetycznych w rozwoju schorzeń autoimmunizacyjnych

Wśród czynników genetycznych zaangażowanych w rozwój procesu autoimmunizacyjnego największe znaczenie ma region kodujący antygeny głównego układu zgodności tkankowej MHC (*major histocompatibility complex*), zwany również HLA (*human leukocyte antigens*) [87,143]. Kompleks genów HLA jest zlokalizowany na krótkim ramieniu 6 chromosomu i obejmuje trzy regiony. Pierwszy region zawiera geny HLA-A, HLA-B i HLA-C, kodujące antygeny klasy I; drugi obejmuje geny HLA-DR, HLA-DQ i HLA-DP, kodujące antygeny klasy II; natomiast trzeci region zawiera geny kodujące m.in. składowe układu dopełniacza [113]. Antygeny HLA klasy I występują na powierzchni wszystkich komórek jądrowych i odpowiadają za wiązanie epitopów wywodzących się zwykle od patogenów wewnątrzkomórkowych oraz ich prezentację limfocytom T cytotoksycznym CD8⁺ (T cytotoxic, Tc). Antygeny HLA klasy II znajdują się na powierzchni komórek prezentujących antygen (*antigen presenting cells*, APC) tj. monocytach, makrofagach, limfocytach B, aktywowanych limfocytach T, komórkach dendrytycznych. Odpowiadają one za rozpoznawanie antygenów pochodzących od patogenów pozakomórkowych i prezentację limfocytom T pomocniczym CD4⁺ (T helper, Th) [66,113,118]. Prezentacja antygenów połączonych z cząsteczkami HLA dotyczy głównie antygenów obcych, ale również autoantygenów. Uważa się, że związek pomiędzy poszczególnymi allelami genów układu HLA (zwłaszcza klasy II) a określonymi schorzeniami autoimmunizacyjnymi jest związany z rolą, jaką odgrywają cząsteczki HLA w procesie rozpoznawania i prezentacji antygenów. Określone antygeny HLA poprzez zróżnicowaną wydajność prezentacji epitopów lub też odmienną zdolność limfocytów T do rozpoznawania antygeny prezentowanego przez daną cząsteczkę, mogą modulować odpowiedź immunologiczną [143].

W predyspozycji do rozwoju schorzeń o podłożu autoimmunizacyjnym odgrywają rolę także geny niezwiązane z układem HLA, kodujące m.in. cytokiny, receptory komórkowe limfocytów, cząsteczki kostymulujące i białka sygnałowe indukujące lub hamujące reakcje immunologiczne [31]. Wymienia się odpowiednio geny zaangażowane w regulację procesu prezentacji antygenów (*autoimmune*

regulator gene, gen AIRE), kontrolujące mechanizmy apoptozy (*Fas receptor*, FasR) oraz regulujące odpowiedź immunologiczną (*cytotoxic T lymphocyte antigen-4*, CTLA-4; *forkhead box p3*, Foxp3) [1,31,102,148].

1.1.2. Rola czynników immunologicznych w rozwoju schorzeń autoimmunizacyjnych

Adaptacyjna odpowiedź immunologiczna na antygeny obejmuje trzy fazy: indukcyjną z udziałem limfocytów pomocniczych Th rozpoznających antygen; centralną z aktywacją, proliferacją, selekcją klonalną oraz różnicowaniem zaangażowanych komórek; efektorową z udziałem wielu typów komórek, m.in. limfocytów Tc, limfocytów B, efektorowych limfocytów Th [118]. Aktywacja limfocytów Th zależy zarówno od sygnału pierwotnego, jakim jest interakcja receptorów TCR (*T-cell receptor*, TCR) z prezentowanym antygenem przez cząsteczki HLA, jak i sygnału dodatkowego, czyli kostymulacji zależnej m.in. od interakcji cząsteczek CD28 i CTLA-4 obecnych na powierzchni limfocytów Th z ligandami B7.1 i B7.2 na komórkach APC [118]. Przy braku dodatkowego sygnału, limfocyty Th nie ulegają aktywacji i dochodzi do zjawiska anergii, będącego jednym z mechanizmów odpowiedzialnych za rozwój tolerancji immunologicznej [113,135]. Jeżeli jest obecny zarówno pierwotny jak i dodatkowy sygnał, dochodzi do pobudzenia oraz transformacji blastycznej limfocytów Th, które następnie aktywują komórki pełniące funkcje efektorowe. Aktywacja odpowiednich komórek efektorowych następuje poprzez spolaryzowanie odpowiedzi immunologicznej i aktywację limfocytów Th do produkcji określonego profilu cytokin (subpopulacje Th1, Th2) [113,118]. Limfocyty Th1 produkują interleukinę 2 (IL-2), interferon- γ (IFN- γ), czynnik martwicy nowotworów (*tumor necrosis factor*, TNF), odpowiedzialne za rozwój odpowiedzi typu komórkowego, natomiast limfocyty Th2 produkują IL-4, IL-5, IL-6, IL-6, IL-10 inicjując odpowiedź humoralną. W nacieku zapalnym pojawiają się limfocyty B, które przechodzą transformację blastyczną i różnicowanie do stadium plazmocytów, produkujących przeciwciała skierowane przeciw autoantygenom. Kolejnymi komórkami efektorowymi pojawiającymi się w nacieku zapalnym są makrofagi produkujące prozapalną IL-1 oraz limfocyty Tc, które rozpoznają antygeny związane z HLA klasy I [66,113,118].

Termin tolerancja immunologiczna oznacza stan braku odpowiedzi na dany antygen, przy zachowanej zdolności do odpowiedzi na inne antygeny. Badania ontogenezy limfocytów T i B pozwoliły na wyjaśnienie zjawiska tolerancji wobec własnych antygenów. Proces ten dokonuje się w dwóch etapach, tj. na drodze nabywania tolerancji pierwotnej w grasicy i szpiku kostnym oraz tolerancji obwodowej, zachodzącej w obwodowych narządach limfatycznych [74,118]. W procesie indukcji tolerancji immunologicznej biorą udział m.in. następujące mechanizmy: anergia autoreaktywnych limfocytów T poprzez blokadę kostymulacji, indukcja regulatorowych limfocytów T, przesunięcie odpowiedzi komórek Th1 w kierunku Th2 oraz delecja autoreaktywnych limfocytów T poprzez negatywną selekcję w grasicy [74,87,118]. Jednym z nadrzędnych czynników odpowiedzialnych za rozwój schorzeń autoimmunizacyjnych jest przełamanie tolerancji immunologicznej wobec własnych antygenów i obecność autoreaktywnych limfocytów T oraz B odpowiedzialnych za uszkodzenie tkanek [74].

Z ostatnio opublikowanych badań wynika, że odpowiedź immunologiczna jest ściśle związana z funkcją niektórych subpopulacji limfocytów T regulatorowych (T reg) [7,116]. Limfocyty T reg mają zdolność hamowania aktywności autoreaktywnych limfocytów T. Szczególną funkcję odgrywają dwie populacje tych limfocytów, tj. limfocyty T reg o fenotypie CD4⁺/CD25⁺ oraz limfocyty Tr1 (*regulatory T cells type 1*). Limfocyty T CD4⁺/CD25⁺ poprzez bezpośredni kontakt z receptorami błonowymi m.in. GITR (*glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor*) oraz CLTA-4 hamują aktywację limfocytów T. Limfocyty Tr1 ograniczają proliferację limfocytów T poprzez produkcję cytokin o silnych właściwościach supresyjnych, tj. IL-10 i transformującego czynnika wzrostu β (*transforming growth factor β* , TGF β) [159]. Główną rolę w kontrolowaniu funkcji limfocytów T reg pełni czynnik transkrypcyjny Foxp3. Uważa się, że mutacje w obrębie genu Foxp3 prowadzą do utraty prawidłowej funkcji limfocytów T Reg a w konsekwencji do rozwoju schorzeń o podłożu autoimmunizacyjnym [58,101].

Zniszczenie tkanek w chorobach autoimmunizacyjnych jest wynikiem różnych mechanizmów immunologicznych [23,87]. W większości schorzeń autoimmunizacyjnych stwierdza się w surowicy obecność autoprzeciwciał oraz kompleksów immunologicznych, które poprzez udział w reakcjach nadwrażliwości typu II i III wg Gella i Coombsa uszkodzają tkanki narządów docelowych. W niektórych schorzeniach w procesie niszczenia tkanek biorą udział aktywne

limfocyty T, zarówno CD4+, jak i CD8+ oraz cytokiny i wolne rodniki uwalniane przez monocyty/makrofagi obecne w naciekach zapalnych (typ IV wg Gella i Coombsa) [23,87,118].

1.2. Nieswoiste zapalenia jelit

1.2.1. Definicja i epidemiologia

Nieswoiste zapalenia jelit (*inflammatory bowel disease*, IBD) stanowią grupę przewlekłych, zapalnych chorób przewodu pokarmowego o wieloczynnikowej etiologii, zróżnicowanej patogenezie i różnorodnych objawach klinicznych. Według obecnie proponowanych podziałów, dwie główne postacie nieswoistego zapalenia jelit to wrzodziejące zapalenie jelita grubego (*colitis ulcerosa*, CU) oraz choroba Leśniowskiego i Crohna (*Crohn's disease*, CD) [64]. Wśród czynników odgrywających rolę w rozwoju IBD wymienia się uwarunkowania genetyczne oraz wpływ czynników środowiskowych. W ostatnich latach obserwuje się wzrost zachorowań na IBD w krajach Europy Zachodniej, także w grupie najmłodszych dzieci [32,96]. Zapadalność w krajach europejskich wynosi 7/100 000/rok przypadków IBD u dzieci i wzrasta do 12/100 000/rok w przedziale wiekowym 20-29 lat [13]. Badania epidemiologiczne prowadzone w Polsce w latach 2002-2004 wykazały, że zapadalność na IBD u dzieci wynosiła 2,7/100 000/rok, przy czym częstość występowania CU była wyższa w porównaniu z CD [76]. Zapadalność na CU u dzieci w makroregionie południowej Polski w latach 1992-1996 wynosiła 0,65/100 000/rok i wzrosła do 1,14/100 000/rok w latach 1997-2002 [71].

1.2.2. Genetyczne podstawy rozwoju nieswoistych zapaleń jelit

Za udziałem czynników genetycznych w rozwoju nieswoistych zapaleń jelit przemawia zwiększona częstość występowania tych schorzeń wśród członków rodzin, przede wszystkim wśród krewnych pierwszego stopnia, a także bliźniąt jednojajowych. Ryzyko rozwoju CD u monozygotycznych bliźniąt wynosi 37%, u dwuzygotycznych 7%, a w przypadku CU ryzyko to wynosi odpowiednio 10% oraz 3% [142]. Wykazano, że regiony genomu ludzkiego określane jako IBD1-IBD9 zlokalizowane m.in. na chromosomach 1, 2, 3, 5, 6, 10, 14, 16, 18, 21, są

związane ze zwiększonym ryzykiem zapadalności na IBD [92,124,160]. W 2001 roku opisano region 16q12, zawierający gen NOD2 (*nucleotide-binding oligomerization domain 2*), nazwany później CARD15 (*caspase activation and recruitment domain 15*) lub NOD2/CARD15, będący wysoce specyficzny dla CD (IBD1) [110]. Gen ten koduje produkt, składający się z domen bogatej w leucynę (*leucine rich repeats*, LRR), domeny wiążącej nukleotydy (*nucleotide binding domain*, NBD) oraz domeny CARD. Białko kodowane przez NOD2/CARD15 obecne w cytoplazmie monocytów, komórkach Panetha oraz komórkach nabłonka jelitowego jest odpowiedzialne za rozpoznawanie bakteryjnych peptydoglikanów oraz aktywację czynnika transkrypcyjnego NF- κ B (*nuclear factor-kappa beta*,) [108]. Częstość występowania mutacji w genie NOD2/CARD15 (w obrębie domeny LRR) u chorych z CD w populacjach Europy Zachodniej oceniono na 25-40% [90,52]. Częstość występowania mutacji u pacjentów z CD w populacji polskiej jest zbliżona do obserwowanej w innych krajach Europy Zachodniej i Środkowej [30,161]. Kolejnym miejscem związanym z rozwojem CD są regiony 10q23 (*discs large homolog 5*, DLG5) oraz 5q31 (*organic cation transporter*, OCTN1, OCTN2) (IBD5) [72,124,160]. Ponadto opisano związek z różnymi allelami genów HLA klasy II, m.in. DRB1*0301, DRB1*0701, DQ4 (IBD3) a predyspozycją do rozwoju CD [115].

Uwarunkowania genetyczne w przypadku CU nie są w pełni poznane. U pacjentów z CU stwierdzono związek z występowaniem następujących alleli genów HLA klasy II: DRB1*1502, DRB1*0103 [124]. W przypadku współwystępowania spondyloartropatii w przebiegu IBD (ok. 3% chorych z CU oraz 6% z CD) obecność antygenu HLA-B27 stwierdza się u 50-75% pacjentów [146].

1.2.3. Mechanizmy immunologiczne w nieswoistych zapaleniach jelit

W warunkach prawidłowych mikroflora jelitowa i lokalny układ immunologiczny GALT (*gut-associated lymphoid tissue*) pozostają w stanie wzajemnej równowagi. Zachowanie tzw. homeostazy jelitowej polega na braku wzbudzania lub hamowaniu odpowiedzi immunologicznej w stosunku do drobnoustrojów komensalnych, przy jednoczesnej identyfikacji inwazyjnych patogenów. Do prawidłowego funkcjonowania tej bariery niezbędne jest zachowanie jej nieprzepuszczalności, głównie dzięki tzw. ścisłym połączeniom

międzykomórkowym (*tight junctions*) [150]. Osłabienie bariery jelitowej poprzez reorganizację białek uczestniczących w uszczelnianiu połączeń międzykomórkowych (zonulina, okludyna, klaudyna 1 i 4), umożliwia bezpośrednie wnikanie antygenów ze światła jelit i stymulację układu GALT [42]. Zasadniczą rolę w procesie rozpoznania drobnoustrojów światła jelitowego odgrywają mechanizmy odporności nieswoistej i tzw. receptory Toll-podobne (*Toll-like receptors*, TLR). Receptory z rodziny TLR znajdują się na enterocytach i licznych komórkach układu immunologicznego (monocyty, komórki dendrytyczne) [2]. Receptory TLR rozpoznają zarówno elementy molekularne związane z bakteriami, będącymi komensalami (*comensal associated molecular patterns*, CAMP), jak i patogenami (*pathogen associated molecular patterns*, PAMP). Mechanizm odróżniania bakterii patogennych od komensalnych nie jest w pełni poznany. Bakterie komensalne nie aktywują odpowiedzi zapalnej skierowanej przeciwko sobie. Bakterie patogene, reagując z TLR, poprzez jądrowy czynnik NF- κ B, pobudzają szlaki sygnalizacyjne aktywujące odpowiedź prozapalną [139,165]. Uważa się, że mutacje genów kodujących receptory TLR są odpowiedzialne za modyfikację odpowiedzi immunologicznej i rozwój patologicznej, przewlekłej reakcji zapalnej [162].

Stała prezentacja antygenów bakteryjnych i pokarmowych limfocytom Th i produkcja odpowiedniego profilu cytokin prowadzi do rozwoju odpowiedzi komórkowej lub humoralnej [135]. Zaobserwowano, że w CD dominuje aktywacja subpopulacji limfocytów Th1, które uwalniają IFN- γ , TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12. Komórki Th1 wspomagają odpowiedź komórkową, w której uczestniczą limfocyty Tc, makrofagi i komórki NK. W przypadku CU wykazano aktywację zarówno limfocytów Th1 jak i Th2, co jest związane ze wzmożonym wytwarzaniem cytokin: IL-4, IL-5, IL-10, które wspomagają odpowiedź humoralną przez indukowanie syntezy immunoglobulin (IgG1, IgA, IgE) [64,87,135]. W wyniku wzrostu poziomu cytokin prozapalnych dochodzi do zwiększenia liczby cząstek adhezyjnych na komórkach śródbłonna naczyń jelitowych: ELAM (*endothelial leukocyte adhesion molecule*), ICAM-1(*intercellular adhesion molecule-1*), co umożliwia migrację komórek zapalnych: limfocytów, makrofagów i granulocytów obojętnochłonnych do blaszki właściwej. Komórki te również produkują i uwalniają czynniki prozapalne m.in. prostaglandyny, leukotrieny, metabolity reaktywnego tlenu, które dodatkowo są odpowiedzialne za uszkodzenie tkanek [64,87,135].

1.2.4. Markery serologiczne w nieswoistych zapaleniach jelit

Współczesna diagnostyka i różnicowanie nieswoistych zapaleń jelit obejmuje ocenę kliniczną, badanie radiologiczne oraz badanie endoskopowe z oceną histopatologiczną [62]. W praktyce klinicznej u około 5-20% chorych wynik badań dodatkowych jest niejednoznaczny i te przypadki klasyfikuje się jako nieokreślone zapalenie jelita grubego (*indeterminate colitis*, IC) [76,96]. Badania serologiczne mogą pomóc w różnicowaniu przypadków wątpliwych, stąd w poszerzonej diagnostyce coraz większą uwagę przywiązuje się do oznaczeń autoprzeciwciał i przeciwciał w surowicy [123]. Obecnie wykorzystuje się następujące oznaczenia:

- autoprzeciwciała przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych (*anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies*, ANCA),
- autoprzeciwciała dla komórek śluzotwórczych jelita (*goblet cells autoantibodies*, GAb),
- autoprzeciwciała dla części zewnątrzwydzielniczej trzustki (*pancreatic autoantibodies*, PAb)
- przeciwciała przeciw *Saccharomyces cerevisiae* (*anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies*, ASCA).

Występowanie autoprzeciwciał ANCA u chorych z nieswoistymi zapaleniami jelit po raz pierwszy zostało opisane w 1990 roku [127]. Autoprzeciwciała ANCA stwierdza się u 45-80% pacjentów z CU, natomiast u około 10% pacjentów z CD a w populacji ogólnej poniżej 4% [8,39,43, 69,105,106,114,123]. Antygen, z którym reagują autoprzeciwciała ANCA w przypadku chorych z CU nie został ostatecznie zdefiniowany. Nieliczne doniesienia wskazują na katepsynę G oraz białko BPI (*bactericidal permeability increasing protein*) jako autoantygeny [137].

Autoprzeciwciała GAb są patognomoniczne dla CU, ale częstość ich występowania u chorych z rozpoznaniem CU wynosi około 30% [123,136]. Uważa się, że zarówno mucyny, jak i czynnik „trójlistny” 3 (*trefoil factor 3*), produkowane przez komórki śluzotwórcze jelita stanowią autoantygen dla przeciwciał GAb [5]. U większości chorych z CU stwierdza się zmiany w glikozylacji mucyn, które prawdopodobnie zwiększają ich immunogenność i indukują odpowiedź immunologiczną [87].

Częstość występowania przeciwciał ASCA u chorych z rozpoznaniem CD wynosi 50-80%, natomiast u pacjentów z CU wynosi około 10%

w populacji ogólnej poniżej 5% [39,69,70,105,114,123]. Pierwszym opisanym antygenem dla przeciwciał ASCA był fosfopeptydomannan, stanowiący element składowy ściany komórkowej drożdży [129]. Dalsze badania określiły sekwencję trimannozową i tetramannozową, jako właściwy epitop dla przeciwciał ASCA [24].

Autoprzeciwciała PAb u chorych z CD zostały opisane po raz pierwszy w 1984 roku [136]. Z obecnych badań wynika, że autoantygenem dla przeciwciał PAb, jest glikoproteina (GP-2), znajdująca się w błonie komórkowej ziarnistości zymogenu [125]. Autoprzeciwciała PAb występują u około 40% pacjentów z CD, lecz ich znaczenie kliniczne nie zostało dotychczas w pełni udokumentowane [47,105,123].

1.3. Choroba trzewna

1.3.1. Definicja, epidemiologia choroby trzewnej

Choroba trzewna jest trwałą nietolerancją glutenu, występującą u osób genetycznie predysponowanych, u których spożycie glutenu prowadzi do uszkodzenia błony śluzowej jelita cienkiego. W skład glutenu wchodzi trzy główne rodzaje białek: prolaminy, gluteliny i albuminy. W chorobie trzewnej znaczenie mają następujące prolaminy: gliadyna (pszenica), sekalina (żyto), hordeina (jęczmień) i awenia (owies) [49]. Na podstawie europejskich i amerykańskich badań przesiewowych szacuje się, że choroba trzewna występuje z częstością od 1:100 do 1:300 w przypadku postaci atypowych, natomiast od 1:1000 do 1:3000 w przypadku postaci klasycznych [95,41,15]. W Polsce epidemiologiczne badania populacyjne przeprowadzone na dużej grupie ponad 3000 dzieci, a także badanie wieloośrodkowe, przeprowadzone w latach 1999-2008 dowodzą, że częstość występowania choroby trzewnej w naszym kraju jest podobna lub tylko nieznacznie niższa od obserwowanej w innych krajach europejskich [4,138]. Całkowita liczba pacjentów z rozpoznaną chorobą trzewną w Polsce nie jest znana, ponieważ nie prowadzi się krajowego rejestru chorych.

1.3.2. Kryteria diagnostyczne oraz postacie choroby trzewnej

Obecnie kryteria diagnostyczne choroby trzewnej opierają się na ustaleniach Europejskiego Towarzystwa Gastroenterologii Pediatricznej i Żywienia (*European Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, ESPGAN), polskich standardach postępowania w chorobie trzewnej oraz amerykańskich wytycznych (*North American Society for Pediatric Gastroenterology*, NASPGHAN) [40,56,170]. Obowiązujące kryteria uwzględniają:

- stwierdzenie objawów klinicznych charakterystycznych dla choroby trzewnej (w obrębie przewodu pokarmowego lub poza nim) w czasie stosowania diety zawierającej gluten lub podejrzenie choroby trzewnej w grupach ryzyka,
- obecność wskaźników serologicznych typowych dla choroby trzewnej,
- stwierdzenie zaniku kosmków w badaniu histopatologicznym wycinka błony śluzowej jelita cienkiego,
- wykluczenie jednostek chorobowych o podobnym obrazie klinicznym i histologicznym,
- poprawę kliniczną po zastosowaniu diety bezglutenowej.

Wyróżnia się następujące postacie choroby trzewnej:

- klasyczna (pełnoobjawowa, aktywna), z charakterystycznymi objawami zespołu złego wchłaniania (przewlekła biegunka, stolce tłuszczowe, brak łaknienia, wymioty), zanikiem kosmków jelitowych w badaniu histopatologicznym oraz obecnością markerów serologicznych w surowicy,
- nietypowa, w której stwierdza się obrazie histopatologicznym zanik kosmków jelitowych, natomiast w przebiegu klinicznym nie obserwuje się objawów typowych dla postaci aktywnej. Stwierdza się natomiast występowanie objawów pozajelitowych m.in., osteoporozę, niedokrwistość, nawrotowe afty i wrzodziejące zapalenia jamy ustnej, niedobory masy ciała i wzrostu, niedorozwój szkliwa zębowego zmiany neurologiczne (ataksja, neuropatia obwodowa), a także zmiany w zachowaniu (depresja),
- niema, w której stwierdza się obecność markerów serologicznych oraz zanik kosmków w badaniu histopatologicznym, przy braku objawów klinicznych,
- latentna, w której występują markery serologiczne, przy braku objawów klinicznych oraz zmian morfologicznych w obrębie błony śluzowej jelita cienkiego [49,135]

W ostatnich latach obserwuje się zmianę obrazu klinicznego choroby trzewnej. Częstość rozpoznawania klasycznej postaci choroby trzewnej, diagnozowanej w pierwszych dwóch latach życia zmniejszyła się, wzrosła natomiast częstość rozpoznawania postaci nietypowych i niemych, występujących u dzieci starszych [64,51]. Badanie populacyjne przeprowadzone we Włoszech wskazuje, że u ponad 70% pacjentów przebieg kliniczny choroby trzewnej jest skąpo- lub bezobjawowy [144].

1.3.3. Patomechanizm rozwoju choroby trzewnej

Etiopatogeneza choroby trzewnej jest wieloczynnikowa. Na jej rozwój mają wpływ zarówno czynniki genetyczne, jak i immunologiczne, a także środowiskowe, np. rodzaj diety, wiek wprowadzenia do żywienia glutenu, infekcje [64]. Allele genów HLA klasy II uważa się za najsilniej związane z predyspozycją do rozwoju choroby trzewnej. Zaobserwowano, że układ alleli HLA-DQA*0501 i HLA-DQB*0201, pozwalający na ekspresję na powierzchni komórek APC heterodimeru o fenotypie DQ2 występuje u około 90% chorych z chorobą trzewną [37,49]. Układ ten potwierdzono również wśród pacjentów z chorobą trzewną w populacji polskiej [164]. Dodatkowo wykazano związki innych regionów w genomie, m.in. 1q31, 3p21, 4q27 (IL2/IL21) z rozwojem choroby trzewnej [59,92].

Obecnie w patomechanizmie rozwoju choroby trzewnej podkreśla się istotną rolę bariery jelitowej [42]. W warunkach prawidłowych nabłonek jelitowy dzięki szczelnym połączeniom międzykomórkowym stanowi barierę dla cząsteczek, takich jak gluten. Osłabienie bariery jelitowej powoduje przenikanie glutenu do blaszki właściwej i wywołuje szereg reakcji obronnych ze strony układu immunologicznego [135]. W roku 2002 zidentyfikowano fragment glutenu, polipeptyd złożony z 33 aminokwasów, bogaty w glutaminę i prolinę, odpowiedzialny za aktywację układu immunologicznego [131]. W obrębie blaszki właściwej, przy udziale transglutaminazy tkankowej, fragment ten ulega modyfikacji, polegającej na deaminacji glutaminy do kwasu glutaminowego. Proces ten powoduje zwiększenie powinowactwa polipeptydu do antygenów HLA-DQ2 lub HLA-DQ8 (ponad 100-krotnie) [135,104]. W rozwoju reakcji immunologicznej kluczową rolę odgrywa układ GALT, wraz z komórkami immunokompetentnymi obecnymi zarówno w nabłonku jelitowym (*intraepithelial lymphocytes*, IELs), jak i w blaszce właściwej

(*lamina propria lymphocytes*, Lpls) [135]. Aktywowane limfocyty Th blaszki właściwej ulegają różnicowaniu w kierunku limfocytów Th1, produkują IFN- γ , który bezpośrednio uszkadza strukturę błony śluzowej jelita. Ponadto IFN- γ powoduje migrację zarówno makrofagów do blaszki właściwej jelita, jak i limfocytów Tc (TCR α/β oraz γ/δ) do nabłonka jelitowego, a także aktywację tych komórek. Aktywowane makrofagi i limfocyty Tc produkują cytokiny prozapalne (TNF, IFN- γ , IL-1), dodatkowo uszkadzające błonę śluzową jelita [135]. Ponadto limfocyty Th blaszki właściwej jelita cienkiego różnicują się w kierunku limfocytów Th2, które produkują IL-4, IL-5 i IL-10. W konsekwencji dochodzi do aktywacji limfocytów B zlokalizowanych w blaszce właściwej, produkcji autoprzeciwciał i przeciwciał [64,135]. Uszkodzenie kosmków jelitowych błony śluzowej jelita cienkiego, prowadzi do zmniejszenia produkcji enzymów trawiennych przez enterocyty oraz upośledzenia wydzielania hormonów tkankowych produkowanych w przewodzie pokarmowym. Na skutek tych uszkodzeń dochodzi do zaburzenia motoryki jelit, nieprawidłowego trawienia i wchłaniania składników pokarmowych [49,135].

1.3.4. Rola przeciwciał w rozpoznaniu i monitorowaniu choroby trzewnej

Odpowiedź humoralna w chorobie trzewnej jest skierowana przeciw czynnikowi zewnętrznemu (gliadyna) oraz antygenom własnym (kalretikulina, transglutaminaza tkankowa) [135]. Do markerów serologicznych choroby trzewnej należą przeciwciała przeciw gliadynie (*anti-gliadin antibodies*, AGA) oraz następujące autoprzeciwciała: przeciw retikulinie (*anti-reticulin autoantibody*, ARA), przeciw endomysium mięśni gładkich (*anti-endomysial autoantibodies*, EmA) oraz przeciw tkankowej transglutaminazie (*anti-tissue transglutaminase autoantibodies*, tTGA). Badania serologiczne zapoczątkowało odkrycie w 1962 roku przeciwciał przeciw gliadynie [54], następnie wykazano w surowicy pacjentów z chorobą trzewną obecność autoprzeciwciał przeciw retikulinie (typ R1) [128]. W 1983 roku wykazano obecność retikuliny typu R1 w osłonce mięśni gładkich (endomysium), a przeciwciała wykrywane u chorych z chorobą trzewną określono mianem przeciwciał przeciw endomysium (EmA) [25]. Antygen, przeciw któremu skierowane są autoprzeciwciała EmA był przedmiotem kilkunastoletnich badań. W 1997 roku zidentyfikowano transglutaminazę tkankową (*tissue transglutaminase*, tTG), enzym szeroko rozpowszechniony w organizmie ludzkim, jako pierwotny

autoantygen w chorobie trzewnej [34]. W jelicie enzym ten katalizuje deaminację glutaminy w cząsteczce gliadyny, a następnie tworzy się kompleks deaminowanej gliadyny z tTG. U osób genetycznie predysponowanych, powstały kompleks inicjuje rozwój zmian typowych dla choroby trzewnej [34]. W 1998 roku opracowano test immunoenzymatyczny, dzięki któremu stało się możliwe oznaczanie poziomu autoprzeciwciał przeciw transglutaminazie tkankowej [35]. Stwierdzenie w surowicy markerów serologicznych choroby trzewnej jest wskazaniem do wykonania badania endoskopowego wraz z oceną histopatologiczną wycinków błony śluzowej jelita. W 1992 roku Marsh wprowadził klasyfikację zmian histopatologicznych w błonie śluzowej, która została zmodyfikowana w 1995 roku [98,109]. Kryteria histopatologiczne uwzględniają nacieki zapalne blaszki właściwej, przerost krypt i zanik kosmków [Aneks 6].

1.4. Cukrzyca typu 1

1.4.1. Definicja, epidemiologia

Cukrzyca typu 1 jest chorobą autoimmunizacyjną, której istotą jest brak lub znaczny niedobór insuliny, spowodowany zniszczeniem komórek β wysp trzustki. Objawy kliniczne cukrzycy pojawiają się dopiero przy uszkodzeniu ponad 90% komórek β [135].

Europa ma jeden z najwyższych współczynników zapadalności na cukrzycę u dzieci, przy czym odnotowywuje się różnice w zależności od regionu geograficznego [61]. Polska w latach 80 i na początku lat 90 należała do krajów o niskiej zapadalności na cukrzycę typu 1, ze średnim współczynnikiem zapadalności 6,6/100 000 mieszkańców/rok [48,140]. Jednak dane epidemiologiczne wskazują na stały wzrost zapadalności na cukrzycę typu 1 i w 2003 roku Polska należała do krajów o średnim poziomie zapadalności [67]. W badaniach wieloośrodkowych obejmujących okres od 1989 do 2004 stwierdzono wzrost wskaźnika z 5,4/100 000 w roku 1989 do 17,5/100 000 w roku 2004 [68]. Wskaźnik zapadalności na cukrzycę typu 1 w regionie krakowskim w 2003 roku u dzieci w wieku poniżej 15 roku życia wynosił 13,7/100 000/rok [26], natomiast w roku 2005 wynosił 20,5/100 000/rok [27].

1.4.2. Predyspozycja genetyczna

Dotychczasowe badania genetyczne polegające na „przeszukiwaniu” całego genomu (badania sprzężeń) umożliwiły zidentyfikowanie ponad 20 miejsc w genomie, związanych z predyspozycją do rozwoju cukrzycy typu 1 [117]. Najważniejszym czynnikiem genetycznym, predysponującym do rozwoju cukrzycy typu 1, podobnie jak w przypadku choroby trzewnej, są geny układu HLA klasy II. Uważa się, że odpowiadają za około 20-40% ryzyka genetycznego rozwoju tej choroby [55,143]. U większości chorych z cukrzycą typu 1 stwierdza się występowanie haplotypów zawierających allele HLA-DRB1, HLA-DQA1, HLA-DQB1 [117,143]. W przypadku genów regionu HLA-DQ największe ryzyko rozwoju cukrzycy wśród rasy kaukaskiej wiąże się z obecnością następujących wariantów alleli HLA: DQA1*0301-DQB1*0302 i DQA1*0501-DQB1*0201 (gdy występują w układzie *cis* są określane odpowiednio jako DQ2 i DQ8). Wykazano również, że allele te w układzie miesznym również związane są z predyspozycją do rozwoju cukrzycy [19,77]. W populacji chorych z cukrzycą w Polsce wykazano występowanie allelu DQB1*0302 oraz następujących haplotypów: DQA1*0301-DQB1*02 i DQA1*030-DQB1*0302, natomiast działanie protekcyjne wykazano w odniesieniu do alleli DQB1*0602 i *0603 oraz DQA1*0102 [86]. Spośród alleli genu HLA-DRB1 najsilniejsze „prodiabetogene” cechy posiada haplotyp DRB1*03-DRB1*04 (przy obecności allelu DRB1*0401), podczas gdy allele DRB1*0403 i DRB1*1501 wykazują działanie protekcyjne [85]. Gen kodujący insulinę, a właściwie poprzedzający go fragment, składający się z różnej liczby tandemowych powtórzeń (*variable number of tandem repeats*, VNTR) jest kolejnym miejscem w genomie warunkującym predyspozycję do rozwoju cukrzycy. Ocenia się, że gen insuliny, zlokalizowany w regionie 11p15.5, jest odpowiedzialny za około 10% ryzyka genetycznego rozwoju tej choroby [151]. Polimorfizm genu dla cząsteczki CTLA-4 (region 2q33) jest związany ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia schorzeń autoimmunizacyjnych, w tym również cukrzycy typu 1 [147]. Cząsteczka CTLA-4 pełni istotną funkcję w przekazywaniu dodatkowego sygnału między komórkami APC a limfocytami T, działając jako negatywny regulator aktywacji limfocytów T [113]. Polimorfizm genu PTPN-22 (*protein tyrosine phosphatase non receptor-type 22*) kodującego niereceptorowe białko fosfatazy tyrozynowej 22, jest także związany ze zwiększonym ryzykiem rozwoju niektórych chorób

autoimmunizacyjnych, w tym cukrzycy typu 1 [18]. Dokładna rola tej kinazy tyrozynowej nie jest dobrze poznana. Wydaje się, że poprzez wpływ na poziom fosorylacji regulatorowych tyrozyn, modyfikuje ona aktywację limfocytów T. Dodatkowo w predyspozycji do rozwoju cukrzycy odgrywają rolę geny odpowiedzialne za produkcję prozapalnych cytokin m.in. IL-12, IL-18, TNF oraz gen receptora dla IL-2 (IL2RA/CD25) [92,141].

1.4.3. Procesy autoimmunizacyjne w cukrzycy typu 1

Najbardziej popularny model „kopenhaski” patogenezy cukrzycy typu 1 zakłada, że proces niszczenia komórek wynika z równoczesnego oddziaływania czynników pochodzenia wewnątrzkomórkowego (cytokiny, wolne rodniki) oraz czynników środowiskowych (wirusy, dieta) [45]. Teoria ta zakłada zmianę antygenowości komórek β przez czynniki środowiskowe, aktywację limfocytów Th, głównie Th1 i produkcję mediatorów (IFN- γ , IL-2), które powodują migrację makrofagów, komórek NK i lokalną produkcję cytokin prozapalnych (IL-1, TNF). W rezultacie dochodzi do nacieku wysp trzustkowych (*insulitis*) i zniszczenia komórek β [45,80,120]. W patogenezie cukrzycy typu 1 dochodzi także do indukcji odpowiedzi humoralnej i produkcji autoprzeciwciał przeciwko swoistym antygenom komórek β wysp trzustki. W surowicy chorych stwierdza się obecność następujących autoprzeciwciał: przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego (*glutamic acid decarboxylase autoantibodies*, GADA), przeciw fosfatazie tyrozyny białkowej (*protein tyrosine phosphatase-related protein 2 molecule autoantibodies*, IA-2A), endogennej insulinie (*insulin autoantibodies*, IAA) a także przeciw niezidentyfikowanym antygenom wysp trzustkowych (*islet cells autoantibodies*, ICA) [87,91]. Badania ostatnich lat zidentyfikowały transporter cynku ZnT8, jako kolejny antygen swoisty dla komórek β , przeciw któremu jest skierowana odpowiedź autoimmunizacyjna w cukrzycy [163]. Powyższe autorzeczniwa, według obecnego stanu wiedzy nie odgrywają istotnej roli w bezpośrednim niszczeniu komórek β wysp trzustki, ale są markerami toczącego się procesu autoimmunizacyjnego. Inne teorie rozwoju cukrzycy typu 1 zakładają, że obecność autoreaktywnych limfocytów, naciekających wyspy trzustkowe jest wyrazem nieprawidłowej selekcji negatywnej w grasicy oraz zaburzeń mechanizmów regulacyjnych układu immunologicznego [6].

1.4.4. Znaczenie badań przesiewowych u pacjentów z cukrzycą typu 1

Rozwój metod diagnostycznych umożliwia wczesne wykrywanie różnorodnych przeciwciał i autoprzeciwciał w surowicy, będących markerami schorzeń autoimmunizacyjnych. Ze względu na wieloletni przebieg procesu autoimmunizacyjnego oraz predykcyjną wartość obecności przeciwciał podnosi się rangę badań przesiewowych, które pozwalają na wczesne wyodrębnienie pacjentów, potencjalnie zagrożonych rozwojem schorzeń autoimmunizacyjnych. Wykorzystanie możliwości badań przesiewowych wraz z wczesną diagnostyką, pozwala na wdrożenie leczenia w przypadkach o skąym lub bezobjawowym przebiegu klinicznym danego schorzenia. U chorych na cukrzycę ocenia się występowanie markerów immunologicznych zarówno chorób tarczycy, jak i choroby trzewnej. Przydatność oznaczeń autoprzeciwciał EmA, tTGA oraz przeciw peroksydazie tarczycowej (*anti-peroxidase autoantibodies*, a-TPO) jako badań przesiewowych w populacji ogólnej i w grupach ryzyka, w tym również wśród chorych z cukrzycą typu 1, potwierdzono w wielu badaniach [22,65,81,107,130,145]. Rekomendacje Amerykańskiego Towarzystwa Diabetologicznego (*American Diabetes Association*, ADA) oraz Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego (PTD) zalecają wykonanie badań przesiewowych w kierunku schorzeń tarczycy i choroby trzewnej u każdego chorego z cukrzycą typu 1 [3,166].

Częstsze występowanie choroby trzewnej nasuwa pytanie o współistnienie innych schorzeń autoimmunizacyjnych przewodu pokarmowego u pacjentów z cukrzycą typu 1. Dane z piśmiennictwa dotyczące współistnienia IBD i cukrzycy są nieliczne i niejednoznaczne. Badanie autorów amerykańskich nie wykazało zwiększonej częstości występowania cukrzycy u chorych z IBD [28]. Opisano natomiast „wspólne” loci, związane z predyspozycją do rozwoju zarówno cukrzycy typu 1, jak i IBD, co stwarza potencjalną możliwość ich współwystępowania. Przykładem jest gen PTPN-22 zlokalizowany na chromosomie 1 (1p13), silnie skojarzony z występowaniem zarówno cukrzycy typu 1, jak i rozwojem CD [141,11]. Ponadto wykazano związek regionów 18p11 (*protein tyrosine phosphatase non receptor-type 2*, PTPN-2) oraz 12q24 (*protein tyrosine phosphatase non receptor-type 11*, PTPN-11) z predyspozycją do rozwoju CD oraz cukrzycy typu 1 [92,141]. Kolejnym miejscem jest region IL-2/IL-21 na chromosomie 4q27, dla

którego wykazano związek z występowaniem m.in choroby trzewnej, cukrzycy typu 1 oraz reumatoidalnego zapalenia stawów [92,94,141,152,168]. Dane z piśmiennictwa wskazują także na związek tego regionu z rozwojem CU, co potwierdza wcześniejsze obserwacje dotyczące możliwości współwystępowania cukrzycy oraz IBD [46,97]. Poszukiwanie markerów w postaci przeciwciał charakterystycznych dla IBD u chorych z cukrzycą typu 1, wydaje się więc w pełni uzasadnione.

2. Cel pracy

1. Ocena rodzaju oraz częstości występowania autoprzeciwciał* i przeciwciał charakterystycznych dla autoimmunizacyjnych schorzeń jelit tj. choroby Leśniowskiego i Crohna, wrzodziejącego zapalenia jelita grubego oraz choroby trzewnej u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1.
2. Określenie związku pomiędzy występowaniem autoprzeciwciał i przeciwciał charakterystycznych dla autoimmunizacyjnych schorzeń jelit a objawami klinicznymi, badaniami laboratoryjnymi oraz czasem trwania i przebiegiem cukrzycy typu 1.

* w dalszej części pracy używano pojęcia przeciwciała, jako określenia zbiorczego, zarówno dla przeciwciał, jak i autoprzeciwciał

3. Material

3.1. Grupa badana

Badaniem objęto 100 dzieci z cukrzycą typu 1 (50 dziewcząt, 50 chłopców) w wieku od 2 do 18 lat, wybranych losowo spośród ponad 600 chorych pozostających pod opieką Poradni Diabetologicznej Kliniki Endokrynologii Dzieci i Młodzieży Katedry Pediatrii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. Rekrutacja pacjentów obejmowała okres od października 2006 roku do czerwca 2008 roku. W zależności od czasu trwania cukrzycy typu 1 wyodrębniono 3 grupy pacjentów:

grupa I (31 chorych, 16 dziewcząt, 15 chłopców, czas trwania cukrzycy poniżej 2 lat). Średni wiek kalendarzowy badanych wynosił 9 lat i 2 miesiące (zakres 2 4\12-17 4\12, mediana 9 lat), średni wiek zachorowania na cukrzycę wynosił 8 lat i 6 miesięcy (zakres 1 8\12-17, mediana 8 11\12 lat), średni czas trwania cukrzycy wynosił 5 miesięcy (zakres 1\12-19\12, mediana 1 miesiąc). W chwili badania 17 dzieci nie rozpoczęło pokwitania, 10 było w trakcie, a 4 zakończyło.

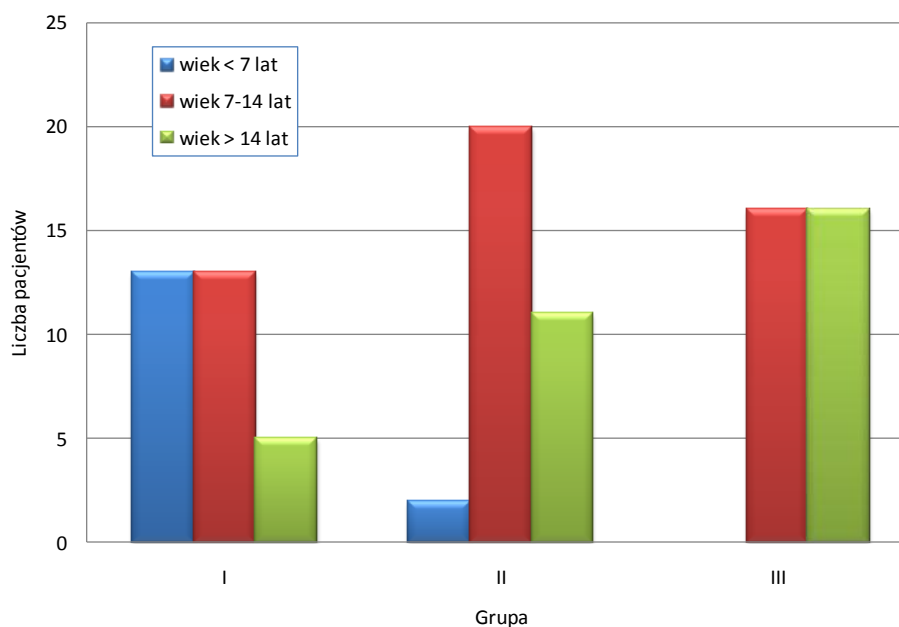
grupa II (33 chorych, 16 dziewcząt, 17 chłopców, czas trwania cukrzycy od 2 lat do 6 lat). Średni wiek kalendarzowy badanych wynosił 12 lat i 11 miesięcy (zakres 4 11\12-17 3\12, mediana 12 6\12 lat), w chwili rozpoczęcia badania średni wiek zachorowania na cukrzycę wynosił 9 lat (zakres 2 4\12-14 1\12, mediana 9 4\12 lat), średni czas trwania cukrzycy w badanej grupie wynosił 3 lata i 11 miesięcy (zakres 2 1\12-5 10\12, mediana 3 11\12 lat). W chwili rozpoczęcia badania 5 dzieci nie rozpoczęło pokwitania, 20 było w trakcie, a 8 zakończyło.

grupa III (36 chorych, 18 dziewcząt, 18 chłopców) czas trwania cukrzycy powyżej 6 lat). Średni wiek kalendarzowy chorych wynosił 14 lat i 6 miesięcy (zakres 8 5\12-18, mediana 14 1\12 lat), w chwili rozpoczęcia badania średni wiek zachorowania na cukrzycę wynosił 5 lat i 6 miesięcy (zakres 11\12-9 9\12, mediana 5 2\12 lat), średni czas trwania cukrzycy w badanej grupie wynosił 9 lat (zakres 6 1\12-14 5\12, mediana 8 10\12 lat). W chwili rozpoczęcia badania 1 pacjent nie rozpoczął pokwitania, 13 było w trakcie, a 22 zakończyło. Charakterystykę grup przedstawiono w tabeli 1.

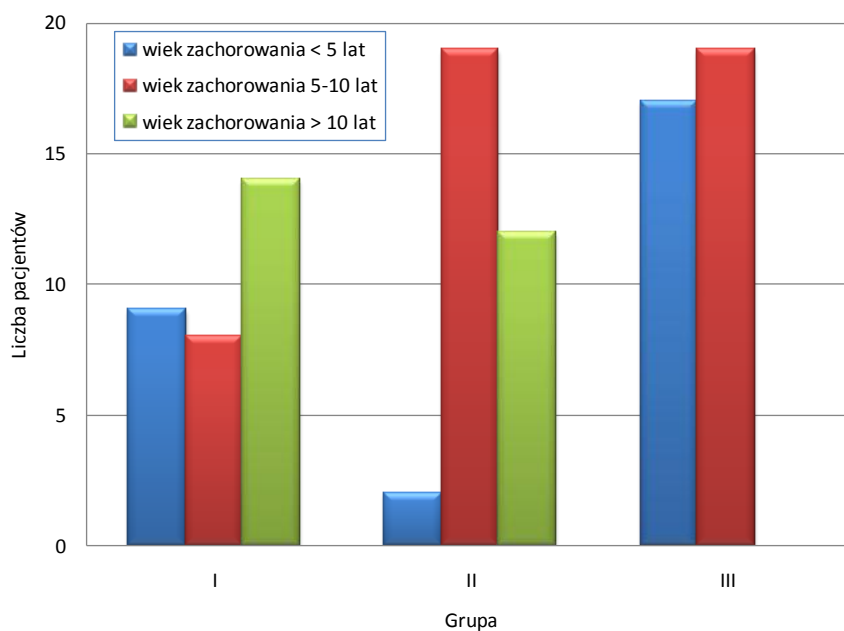
Tabela 1. Ogólna charakterystyka badanych grup pacjentów z cukrzycą typu 1

		grupa I n=31	grupa II n=33	grupa III n=36
średnia wieku [lata]		9 2/12	12 11/12	14 6/12
średni wiek zachorowania na cukrzycę [lata]		8 6/12	9	5 6/12
średni czas trwania cukrzycy [lata]		5/12	3 11/12	9
pokwitanie [wg skali Tannera]	I	17	5	1
	II-IV	10	20	13
	V	4	8	22

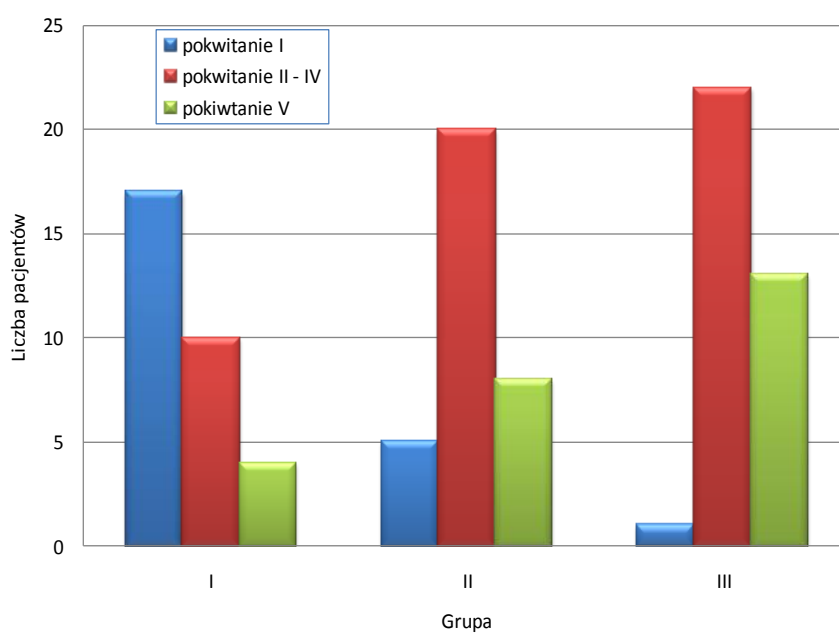
Rozkład w zależności od wieku, czasu zachorowania na cukrzycę oraz stopnia pokwitania w poszczególnych grupach chorych z cukrzycą przedstawiają ryciny 1-3.



Rycina 1. Liczba pacjentów z cukrzycą typu 1 w poszczególnych grupach badanych w zależności od wieku kalendarzowego



Rycina 2. Liczba pacjentów w poszczególnych grupach badanych w zależności od wieku zachorowania na cukrzycę typu 1



Rycina 3. Liczba pacjentów z cukrzycą typu 1 w poszczególnych grupach badanych w zależności od stopnia powikłania

W badanych grupach oznaczono:

1. parametry auksologiczne (masa ciała, wzrost, wskaźnik BMI) oraz obliczono dobowe zapotrzebowanie na insulinę,

2. parametry laboratoryjne: hematokryt (Ht), hemoglobinę (Hb), liczbę erytrocytów (E), liczbę leukocytów (L), liczbę płytek krwi (PLT), wskaźnik MCV, jonogram, białko całkowite, albuminy, aminotransferazę alaninową (ALT), wolną tyroksynę (fT4), hormon tyreotropowy (TSH), przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej (a-TPO), cholesterol całkowity (CHL), trójglicerydy (TG), hemoglobinę glikowaną (HbA1c), białko C-reaktywne (CRP) oraz OB,
3. parametry immunologiczne: przeciwciała charakterystyczne dla nieswoistych zapaleń jelit oraz choroby trzewnej: ASCA, ANCA, PAb, GAb, EmA.

W badaniu uczestniczyło 13 pacjentów z cukrzycą i współistniejącą chorobą trzewną. U 8 pacjentów rozpoznano chorobę trzewną przed rozpoczęciem badania, natomiast u 5 pacjentów z nowym zachorowaniem na cukrzycę typu 1 rozpoznano chorobę trzewną w trakcie trwania badania. Ogółem u 11 spośród 13 chorych stosowano eliminacyjną dietę bezglutenową, u 2 pacjentów ze względu na prawidłowy wynik badania histopatologicznego błony śluzowej jelita cienkiego (postać latentna choroby trzewnej), nie stosowano diety eliminacyjnej. W zależności od czasu trwania cukrzycy pacjenci ze współistniejącą chorobą trzewną należeli odpowiednio: 7 badanych do grupy I, 2 badanych do grupy II, 4 badanych do grupy III.

3.2. Grupa porównawcza (grupa IV)

Grupe porównawczą stanowiło 24 pacjentów zgłaszających się z podejrzeniem niedoboru odporności do Poradni Immunologicznej Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie. Średnia wieku w tej grupie wynosiła 8 lat i 4 miesiące (zakres od 2 4/12 do 15 5/12 lat, mediana 7 5/12 lat). U wszystkich dzieci wykluczono zdefiniowany niedobór odporności.

W grupie porównawczej oznaczono:

1. parametry laboratoryjne: hematokryt (Ht), hemoglobinę (Hb), liczbę erytrocytów (E), liczbę leukocytów (L), liczbę płytek krwi (PLT), wskaźnik MCV, jonogram, białko całkowite, albuminy, aminotransferazę alaninową (ALT), wolną tyroksynę (fT4), hormon tyreotropowy (TSH), przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej (a-TPO), cholesterol całkowity (CHL), trójglicerydy (TG), CRP oraz OB,
2. parametry immunologiczne: przeciwciała charakterystyczne dla nieswoistych zapaleń jelit oraz choroby trzewnej: ASCA, ANCA, PAb, GAb, EmA.

4. Metody

4.1. Metody auksologiczne

U wszystkich pacjentów wykonano badanie przedmiotowe oraz pomiary antropometryczne. Do pomiaru wzrostu wykorzystano stadiometr Harpender. Za wynik przyjęto średnią wartość z trzech kolejno wykonanych pomiarów wzrostu. Pomiaru masy ciała wykonano z wykorzystaniem wagi lekarskiej. Na podstawie uzyskanych wyników obliczono wskaźnik masy ciała wg wzoru: $BMI (kg/m^2) = \text{masa ciała (kg)} / \text{wzrost}^2 (m^2)$. Uzyskane wyniki BMI oraz wzrostu wyrażono w postaci SDS (*standard deviation score*) w oparciu o normy populacyjne i siatki centylowe dla dzieci warszawskich, opracowane przez Palczewską i Niedźwiecką [112]. Stopień pokwitania oceniono wg skali Tannera [99,100].

4.2. Metody badań laboratoryjnych

Parametry morfotyczne krwi oceniano zgodnie ze standardową procedurą, z wykorzystaniem automatycznego pomiaru (analizator Sysmex). Wartość OB oznaczano zgodnie z procedurą standardową, z odczytem wyrażonym w milimetrach. Stężenie białka CRP w surowicy krwi oznaczano metodą nefelometryczną. Stężenie białka całkowitego, albumin, kreatyniny, ALT cholesterolu całkowitego, triglicerydów oraz jonogram w surowicy krwi oznaczano metodą spektrofotometryczną (analizator Vitros 5,1 FS). Odsetek HbA1c oznaczano w krwi kapilarnej metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej. Stężenie hormonu tyreotropowego (TSH) oraz wolnej tyroksyny (fT4) oznaczano w surowicy krwi metodą immunochemiluninescencji (analizator ADVIA Centaur). Poziom przeciwciał przeciw peroksydazie tarczycowej (a-TPO) oznaczano metodą radioimmunologiczną.

Badania wykonano w Zakładzie Biochemii Klinicznej, Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii, Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. Kierownik jednostki: prof. dr hab. Krystyna Sztefko.

4.3. Immunofluorescencja pośrednia

Immunofluorescencja pośrednia (*indirect immunofluorescence*, IIF) jest metodą jakościową, służącą do wykrywania w surowicy autoprzeciwciał i przeciwciał. W metodzie tej, w pierwszym etapie wykorzystuje się skrawki prawidłowych tkanek (preparaty standardowe), jako tzw. substrat antygenowy do reakcji z przeciwciałami obecnymi w badanej surowicy. W drugim etapie kompleks antygen-przeciwciało jest wykrywany za pomocą przeciwciał drugorzędowych znakowanych fluorochromem [33].

Krew do badań pobierano na skrzep, następnie odwirowano, a uzyskane surowice przechowywano w temperaturze -70°C do czasu wykonywania badań immunofluorescencyjnych. Badane surowice rozcieńczano buforem fosforanowym z 0,1% Tween 20 (PBS-Tween), uzyskując stężenia 1:10, 1:100, w zależności od rodzaju wykonywanych oznaczeń. Na każde pole płytki reakcyjnej pipetowano 25 μl rozcieńczonej badanej surowicy i inkubowano z preparatem standardowym (płytką *Biochip*) w temperaturze pokojowej, przez 30 minut. Następnie płytki *Biochip* przemywano roztworem PBS-Tween. W drugim etapie inkubacji używano poliklonalnej surowicy króliczej, zawierającej przeciwciała dla ludzkich immunoglobulin, sprzężone z fluoresceiną (konjugat). Konjugaty rozcieńczano w PBS-Tween w stosunku 1:60 w klasie IgG oraz 1:30 w klasie IgA. Na każde pole płytki reakcyjnej pipetowano po 20 μl rozcieńczonego konjugatu i inkubowano z płytką *Biochip* w temperaturze pokojowej, przez 30 minut, bez dostępu światła. Płytkę *Biochip* przemywano, osuszano a następnie umieszczano na szkiełku nakrywkowym z naniesionym glicerolem. Wykonane preparaty oceniano w mikroskopie fluorescencyjnym (Bx60, Olympus) w powiększeniu 100-krotnym. Do każdej serii badań wykonano równoległe oznaczenia z surowicami kontrolnymi (kontrola pozytywna i negatywna). W badaniu wykorzystano zestawy *Euroimmun Medizinische Labordiagnostika AG* (Lubeka, Niemcy).

4.3.1. Interpretacja wyników badań

Analiza jakościowa obejmowała ocenę intensywności fluorescencji danego preparatu wg poniższych kryteriów:

- (-) brak fluorescencji preparatu,

- (+) intensywność słaba-fluorescencja preparatu słabsza niż kontrola pozytywna,
- (++) intensywność silna-fluorescencja preparatu porównywalna do kontroli pozytywnej,
- (+++) intensywność bardzo silna-fluorescencja preparatu silniejsza niż kontrola pozytywna.

4.4. Wykrywanie przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit oraz choroby trzewnej

U wszystkich badanych wykonano oznaczenie przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit oraz choroby trzewnej przy zastosowaniu metody IIF. Wykorzystano zestawy standardowe, zawierające skrawki tkanek następujących narządów: trzustka i jelito małe, a także granulocyty obojętnochłonne i preparat drożdży *Saccharomyces cerevisiae* (zestawy: FA 1380, FA 1919, FA 1911).

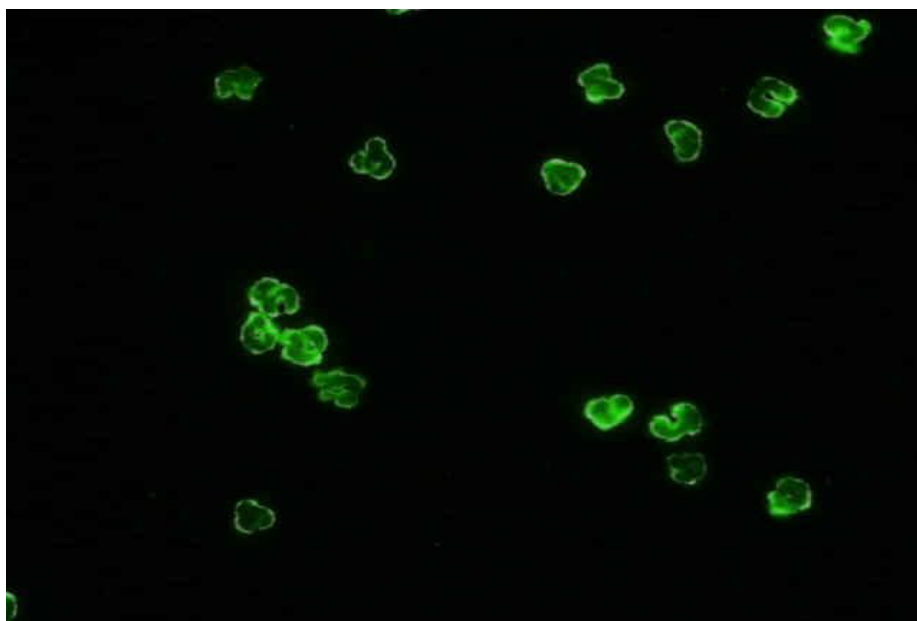
4.4.1. Przeciwciała charakterystyczne dla wrzodziejącego zapalenia jelita grubego

a. Przeciwciała ANCA oznaczono metodą immunofluorescencji pośredniej, z wykorzystaniem preparatów standardowych ludzkich granulocytów obojętnochłonnych. Na podstawie obrazu fluorescencji wyróżnia się trzy typy przeciwciał ANCA:

- cytoplazmatyczny (*c-cytoplasmatic*, cANCA), charakteryzujący się intensywną, gruboziarnistą fluorescencją dotyczącą całej cytoplazmy, ze szczególnym nasileniem w obszarze pomiędzy płatkami jądra. Antygenem jest proteinaza 3 (29 kD proteinaza serynowa), rzadziej białko BPI, enolaza lub lizozym,
- okołojądrowy (*p-perinuclear*, pANCA) z fluorescencją zlokalizowaną wokół jądra komórkowego. Antygenem jest natywna mieloperoksydaza, ale także katepsyna G, laktoferryne, elastaza, katalaza,
- atypowy (*a-atypical*, aANCA) z podobnym obrazem jak w przypadku cANCA, ale drobnoziarnistą fluorescencją dotyczącą cytoplazmy [119].

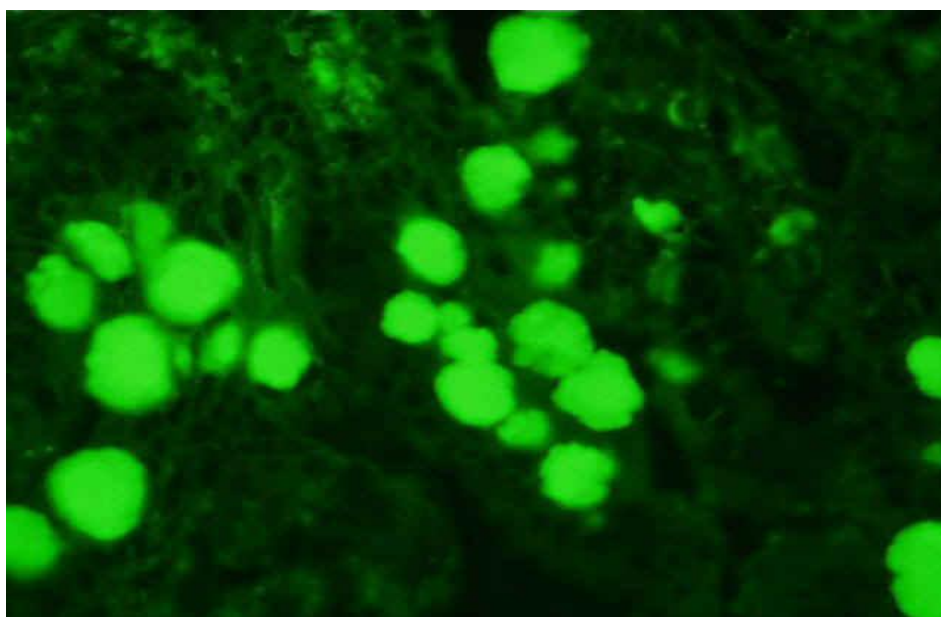
Za pozytywny wynik badania przeciwciał ANCA przyjęto zarówno drobnoziarnisty obraz fluorescencji cytoplazmy (aANCA), jak i okolicy

okołojądrowej (pANCA) granulocytów obojętnochłonnych przy rozcieńczeniu surowicy badanej 1:10 (ryc. 4).



Rycina 4. Przeciwciała przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych (pANCA)-obraz z mikroskopu fluorescencyjnego

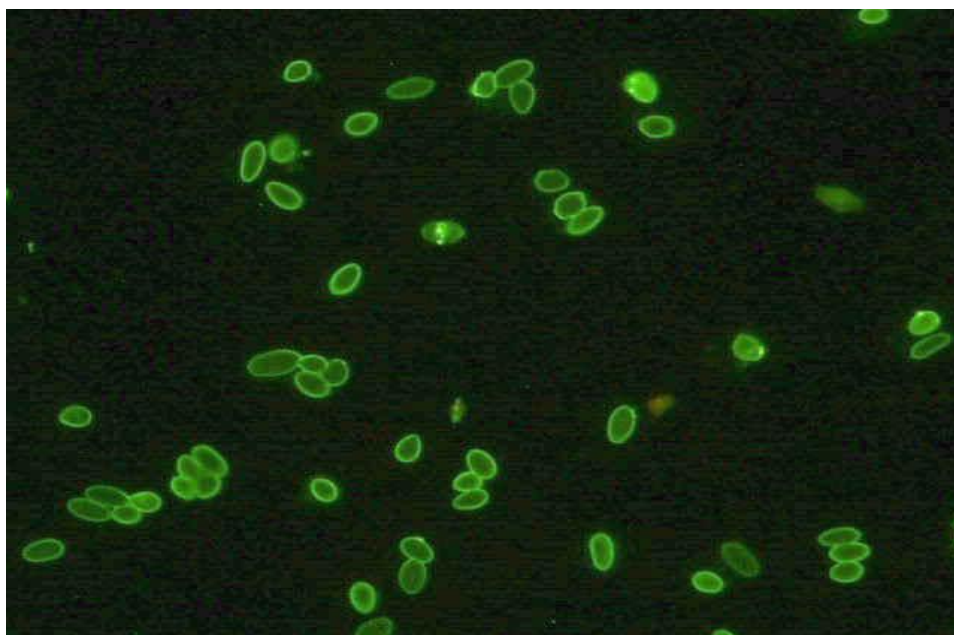
b. Przeciwciała GAb oznaczono metodą immunofluorescencji pośredniej z wykorzystaniem skrawków jelita małpy. Za wynik dodatni przyjęto fluorescencję cytoplazmy komórek kubkowych przy rozcieńczeniu surowicy badanej 1:10 (ryc. 5).



Rycina 5. Przeciwciała dla komórek śluzotwórczych jelita (GAb)-obraz z mikroskopu fluorescencyjnego

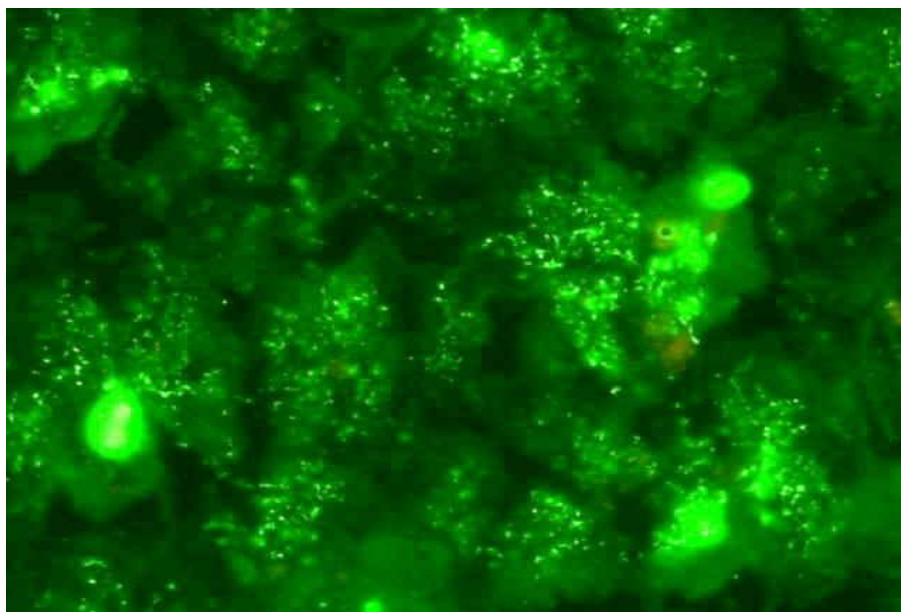
4.4.2. Przeciwciała charakterystyczne dla choroby Leśniowskiego i Crohna

a. Przeciwciała ASCA oznaczono metodą immunofluorescencji pośredniej przy zastosowaniu utrwalonego preparatu drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Za pozytywny wynik uznano fluorescencję ściany komórkowej drożdży *Saccharomyces cerevisiae* w surowicy badanej, rozcieńczonej 1:100 dla przeciwciał klasy IgA oraz 1:1000 dla przeciwciał klasy IgG (ryc. 6).



Rycina 6. Przeciwciała przeciw *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA)-obraz z mikroskopu fluorescencyjnego

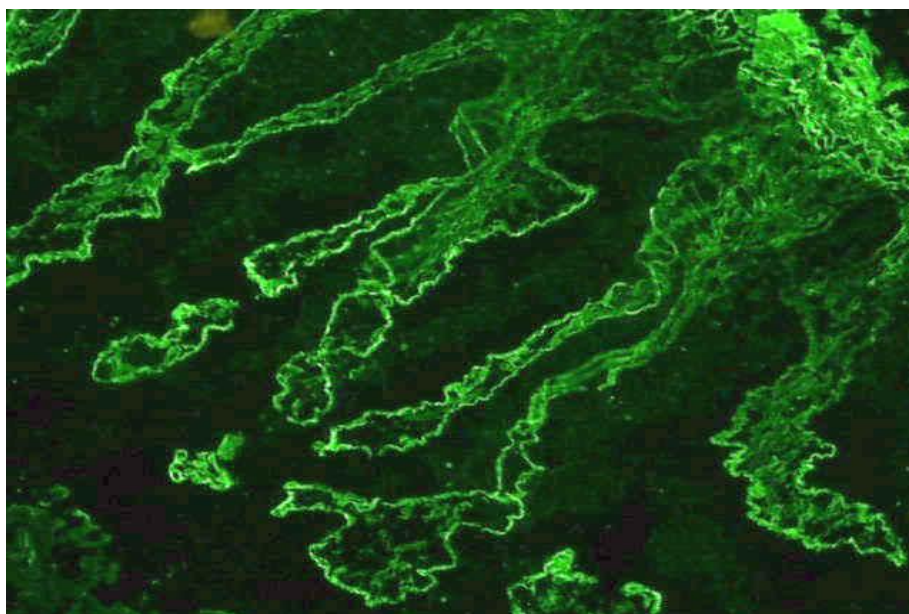
b. Przeciwciała PAb oznaczono metodą immunofluorescencji pośredniej, z wykorzystaniem skrawków trzustki małpy. Za dodatni wynik badania uznano siatkowatą, ziarnistą lub kroplistą fluorescencję części zewnątrzzielniczej trzustki, przy rozcieńczeniu surowicy badanej 1:10 (ryc. 7).



Rycina 7. Przeciwciała dla części zewnątrzwydzielniczej trzustki (PAb)-obraz z mikroskopu fluorescencyjnego

4.4.3. Przeciwciała charakterystyczne dla choroby trzewnej

a. Przeciwciała EmA oznaczono metodą immunofluorescencji pośredniej, z wykorzystaniem skrawków jelita małpy. Za pozytywny wynik badania uznano liniową fluorescencję przy rozcieńczeniu surowicy badanej 1:10 (ryc. 8).



Rycina 8. Przeciwciała przeciw endomysium mięśni gładkich (EmA)-obraz z mikroskopu fluorescencyjnego

Charakterystykę oznaczeń immunofluorescencyjnych przedstawia tabela 2.

Tabela 2. Rodzaj zastosowanych tkanek (komórek), lokalizacja autoantygenów oraz rozcieńczenie badanych surowic (metoda IIF)

rodzaj tkanek/komórek	lokalizacja autoantygenów	rozcieńczenie surowicy
trzustka małpy	część zewnątrzwydzielnicza trzustki	1:10 (IgA, IgG)
jelito małpy	komórki śluzotwórcze	1:10 (IgA, IgG)
granulocyty obojętnochłonne	cytoplazma granulocytów obojętnochłonnych	1:10 (IgA, IgG)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ściana komórkowa <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1:100 (IgA) 1:1000 (IgG)
jelito małpy	endomysium mięśni gładkich	1:10 (IgA, IgG)

Zestawienie rodzaju przeciwciał, czułości i swoistości ich oznaczeń przy zastosowaniu metody IIF przedstawiono w tabeli 3.

Tabela 3. Czułość i swoistość oznaczeń przeciwciał w autoimmunizacyjnych schorzeniach jelit (metoda IIF)

	przeciwciała	czułość [%]	swoistość [%]	piśmiennictwo
wrzodziejące zapalenie jelita grubego	GAb	25	95	88,167
	ANCA	38-73	83-97	114,121,132,167
choroba Leśniowskiego i Crohna	PAb	47	95	88,167
	ASCA	39-71	86-95	114,121,156,167
choroba trzewna	EmA	81-90	98-100	9,130

W przypadku łącznej oceny i wykazania obecności przeciwciał ANCA przy braku przeciwciał ASCA (ANCA+/ASCA-) czułość i swoistość testu w diagnostyce CU wzrasta do 100%. Przy obecności przeciwciał ASCA przy braku przeciwciał

ANCA (ASCA+/ANCA-) czułość testu w diagnostyce CD wynosi 90%, a swoistość 100% [121].

Badania immunologiczne wykonano w Zakładzie Immunologii Klinicznej, Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii, Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie.

Kierownik jednostki: prof. dr hab. med. Marek Zembala

4.5. Metody statystyczne

Do statystycznego opracowania wyników użyto pakietu STATISTICA 6.0. Do opisu danych wykorzystano średnią arytmetyczną, odchylenie standardowe [SD], wartość minimalną i maksymalną, a dla wybranych zmiennych poszerzono statystykę opisową o medianę. Rozkład badanych zmiennych sprawdzano przy pomocy testu Shapiro-Wilka. Do porównania średnich wartości cech użyto testu ANOVA (dla cech o rozkładzie normalnym) oraz testu ANOVA Kruskala-Wallisa (dla cech, które nie miały rozkładu normalnego). W celu porównania zbiorów danych użyto testu t (dla cech o rozkładzie normalnym) oraz test U Mann-Whitney'a (dla cech, które nie miały rozkładu normalnego). Wyznaczono iloraz szans (OR) z 95% przedziałem ufności (*confidence interval*, CI) dla ryzyka występowania przeciwciał ASCA u pacjentów z chorobą trzewną i obecnymi przeciwciałami EmA. Za poziom istotności statystycznej przyjęto $p < 0,05$.

5. Protokół badania

Etap I

Spośród ponad 600 dzieci z cukrzycą typu 1 pozostających pod opieką Poradni Diabetologicznej Kliniki Endokrynologii Dzieci i Młodzieży w Krakowie losowo wybrano 100 dzieci:

- grupa I-dzieci z przebiegiem cukrzycy poniżej 2 lat,
- grupa II-dzieci z przebiegiem cukrzycy od 2 do 6 lat,
- grupa III-dzieci z przebiegiem cukrzycy powyżej 6 lat.

Etap II

Badanie składało się z dwóch wizyt przeprowadzonych w odstępie 6 miesięcy.

Wizyta I

W grupie 100 badanych z cukrzycą typu 1 przeprowadzono wywiad, badanie fizykalne z oceną auksologiczną oraz obliczono dobowe zapotrzebowanie na insulinę. Wykonano oznaczenia następujących parametrów laboratoryjnych:

- hematokryt (Ht), hemoglobina (Hb), liczba erytrocytów (E), liczba leukocytów (L), liczba płytek krwi (PLT), wskaźnik MCV, jonogram, białko całkowite, albuminy, aminotransferaza alaninowa (ALT), wolna tyroksyna (fT4), hormon tyreotropowy (TSH), przeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej (a-TPO), cholesterol całkowity (CHL), trójglicerydy (TG), HbA1c, CRP oraz OB,
- przeciwciała charakterystyczne dla nieswoistych zapaleń jelit oraz choroby trzewnej: ASCA, ANCA, PAb, GAb, EmA (badanie I).

Wizyta II

U wszystkich 100 badanych przeprowadzono wywiad i badanie fizykalne z oceną auksologiczną oraz oznaczono przeciwciała EmA w surowicy krwi. Badanie przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit wykonano u pacjentów, u których wykazano ich obecność w badaniu I (badanie II). Grupę porównawczą w odniesieniu do badań laboratoryjnych oraz immunologicznych stanowiło 24 pacjentów, zgłaszających się do Poradni Immunologicznej Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie. U wszystkich pacjentów z grupy porównawczej wykluczono zdefiniowany niedobór odporności.

Badania immunologiczne przewidziane protokołem badania, prowadzący badanie wykonywał osobiście.

Dobrowolną zgodę na udział w badaniu potwierdzono podpisaniem świadomej zgody prawnych opiekunów dziecka, a w przypadku ukończenia przez pacjenta 16 lat, zgodę na udział w badaniu podpisywał również pacjent.

Uzyskano pozytywną opinię Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego na prowadzenie badań (KBET/113/B/2004).

6. Wykaz zastosowanych skrótów

AGA-przeciwciała przeciw gliadynie (*anti-gliadin antibodies*),
a-TPO-autoprzeciwciała przeciw peroksydazie tarczycowej (*anti-peroxidase autoantibodies*)
ANCA-autoprzeciwciała przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych (*anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies*)
APC-komórki prezentujące antygen (*antigen presenting cells*)
ARA-autoprzeciwciała przeciw retikulinie (*anti-reticulin autoantibodies*),
ASCA-przeciwciała przeciw *Saccharomyces cerevisiae* (*anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies*)
BCR-receptor powierzchniowy limfocytów B (*B-cell receptor*)
CD-choroba Leśniowskiego i Crohna (*Crohn's disease*)
CTLA-4-antygen 4 związany z limfocytami T-cytotoksycznymi (*cytotoxic T-lymphocyte antigen-4*)
CU-wrzodziejące zapalenie jelita grubego (*colitis ulcerosa*)
EmA-autoprzeciwciała przeciw endomysium mięśni gładkich (*anti-endomysium autoantibodies*)
tTGA-autoprzeciwciała przeciw tkankowej transglutaminazie (*anti-tissue transglutaminase autoantibodies*)
GAb-autoprzeciwciała dla komórek śluzotwórczych jelita (*goblet cells autoantibodies*)
GADA-autoprzeciwciała przeciw dekarboksylazie kwasu glutaminowego (*glutamic acid decarboxylase autoantibodies*)
GALT-tkanka limfatyczna przewodu pokarmowego (*gut-associated lymphoid tissue*)
HLA-antygeny zgodności tkankowej (*human leukocyte antigens*)
IA-2A-autoprzeciwciała przeciw fosfatazie tyrozyny białkowej (*protein tyrosine phosphatase-related protein 2 molecule autoantibodies*)
IAA-autoprzeciwciała przeciw insulinie (*insulin autoantibodies*)
IBD-nieswoiste zapalenia jelit (*inflammatory bowel diseases*)
ICA-autoprzeciwciała przeciw wyspce (*islet cells autoantibodies*)
PAb-autoprzeciwciała dla części zewnątrzwydzielniczej trzustki (*pancreatic autoantibodies*)

7. Wyniki

7.1. Występowanie przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit u chorych z cukrzycą typu 1

W analizowanej grupie 100 chorych z cukrzycą typu 1 występowanie przeciwciał charakterystycznych dla IBD stwierdzono u 26 pacjentów (badanie I). W badaniu tym wykazano następujące rodzaje przeciwciał: ASCA w klasie IgG-17 badanych, ASCA w klasie IgA i IgG-2 badanych, ASCA w klasie IgG wraz z przeciwciałami PAb-6 pacjentów, GAb-1 pacjent (tab. 4).

Tabela 4. Częstość występowania oraz rodzaj przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit w grupie pacjentów z cukrzycą (badanie I) (n=100)

n	ASCA		PAb IgG	GAb IgG
	IgG	IgA		
74	-	-	-	-
17	+	-	-	-
6	+	-	+	-
2	+	+	-	-
1	-	-	-	+

Średnia wieku w grupie 26 chorych, u których stwierdzono przeciwciała charakterystyczne dla IBD wynosiła 12 lat i 2 miesiące, średni czas trwania cukrzycy wynosił 4 lata. Objawy kliniczne ze strony przewodu pokarmowego obserwowano u 7 badanych, w tym u 2 pacjentów z chorobą trzewną (Aneks 1).

W grupie 26 pacjentów, u których wykazano występowanie przeciwciał charakterystycznych dla IBD w badaniu I, przeprowadzono po 6 miesiącach badanie II. W badaniu tym potwierdzono obecność przeciwciał charakterystycznych dla IBD u 24 pacjentów, a rodzaj przeciwciał przedstawiał się następująco: ASCA w klasie IgG-16 badanych, ASCA w klasie IgA i IgG-1 badany, ASCA w klasie IgG wraz z przeciwciałami PAb-5 pacjentów, GAb-1 pacjent (tab. 5). W badaniu II nie potwierdzono występowania przeciwciał u 2 pacjentów, wykazanych w badaniu I. Różnica pomiędzy badaniem I i II może wynikać z niskich poziomów przeciwciał w surowicy tych pacjentów, granicznych dla metody immunofluorescencji pośredniej, bez tendencji do wzrostu miana tych przeciwciał w okresie 6 miesięcy.

Tabela 5. Częstość występowania oraz rodzaj przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit w grupie pacjentów z cukrzycą (badanie II)

n=26	ASCA		PAb IgG	GAb IgG
	IgG	IgA		
2	-	-	-	-
16	+	-	-	-
5	+	-	+	-
2	+	+	-	-
1	-	-	-	+

Średnia wieku w badanej grupie 24 chorych wynosiła 12 lat i 7 miesięcy, średni czas trwania cukrzycy wynosił 4 lata i 7 miesięcy. Objawy kliniczne obserwowano u 5 badanych, w tym u 3 pacjentów z rozpoznaną chorobą trzewną (Aneks 2).

W grupie 100 chorych z cukrzycą, u żadnego spośród badanych pacjentów nie stwierdzono obecności przeciwciał ANCA, charakterystycznych dla CU. Potwierdzenie występowania przeciwciał charakterystycznych dla IBD (ASCA, PAb, GAb) u tych samych chorych na przestrzeni 6 miesięcy, może wskazywać na obecność procesu autoimmunizacyjnego toczącego się w obrębie przewodu pokarmowego.

W badanej grupie porównawczej nie wykazano przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit, a także dla choroby trzewnej.

7.2. Częstość występowania oraz rodzaj przeciwciał dla nieswoistych zapaleń jelit, a czas trwania cukrzycy

W poszczególnych grupach chorych z cukrzycą typu 1, wyodrębnionych na podstawie czasu trwania choroby analizowano częstość występowania oraz rodzaj przeciwciał charakterystycznych dla IBD. W grupie I stwierdzono obecność przeciwciał charakterystycznych dla IBD u 11 badanych (35,5%), w grupie II u 4 badanych (12,1%), natomiast w grupie III u 11 badanych (30,5%). W grupie I wykazano następujące rodzaje przeciwciał: ASCA w klasie IgG-9 badanych, ASCA w klasie IgA i IgG-1 badany, ASCA w klasie IgG wraz z przeciwciałami PAb - 1 badany. W grupie II przeciwciała ASCA w klasie IgG wykazano u 4 badanych, w tym w 3 przypadkach łącznie z przeciwciałami PAb. W grupie III wykazano

przeciwciała: ASCA w klasie IgG-7 badanych, ASCA w klasie IgA i IgG - 1 badany, ASCA w klasie IgG wraz z przeciwciałami PAb-2 badanych, GAb-1 badany. Częstość występowania oraz rodzaj przeciwciał w poszczególnych grupach chorych z cukrzycą przedstawiono w tabeli 6.

Tabela 6. Występowanie przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit w grupach I, II i III (badanie I)

rodzaj przeciwciał	grupa I n=31	grupa II n=33	grupa III n=36	razem n=100
ASCA IgG	9	1	7	17
ASCA IgA i IgG	1	-	1	2
ASCA IgG i PAb IgG	1	3	2	6
GAb IgG	-	-	1	1
Σ	11	4	11	26
	35,5%	12,1%	30,5%	26%

Niski odsetek przeciwciał charakterystycznych dla IBD stwierdzono w grupie II, natomiast wysoki odsetek tych przeciwciał wykazano w grupach I oraz III.

W badaniu II liczba pacjentów z obecnymi przeciwciałami charakterystycznymi dla IBD w poszczególnych grupach chorych wynosiła odpowiednio: 10 badanych w grupie I (32,2%), 3 badanych w grupie II (9%), 11 badanych w grupie III (30,5%). W grupie I wykazano następujące rodzaje przeciwciał: ASCA w klasie IgG-9 badanych, ASCA w klasie IgA i IgG-1 badany. W grupie II obecność przeciwciał ASCA łącznie z przeciwciałami PAb stwierdzono w 3 przypadkach. W grupie III rodzaj występujących przeciwciał był taki sam jak wykazany w badaniu I. Zestawienie rodzaju oraz częstości występowania przeciwciał w poszczególnych grupach chorych z cukrzycą przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 7. Występowanie przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit w grupach I, II i III (badanie II)

rodzaj przeciwciał	grupa I n=31	grupa II n=33	grupa III n=36	razem n=100
ASCA IgG	9	-	7	16
ASCA IgA i IgG	1	-	1	2
ASCA IgG i PAb	-	3	2	5
GAb	-	-	1	1
Σ	10	3	11	24
	32,2%	9%	30,5%	24%

W badaniu II, podobnie jak w badaniu I nie wykazano zależności pomiędzy częstością występowania przeciwciał charakterystycznych dla IBD, a czasem trwania cukrzycy.

7.3. Analiza obrazu klinicznego, parametrów auksologicznych oraz zapotrzebowania na insulinę w badanych grupach

7.3.1. Objawy kliniczne

Wszyscy chorzy, u których stwierdzono występowanie przeciwciał charakterystycznych dla autoimmunizacyjnych schorzeń jelit w badaniu I i II, zostali skierowani do Poradni Gastroenterologicznej. Pacjenci ci zostali objęci badaniami diagnostycznymi prowadzonymi poza protokołem, zgodnymi ze standardami postępowania dla danego schorzenia. W grupie 24 chorych, u których potwierdzono występowanie przeciwciał charakterystycznych dla IBD w badaniu I i II, objawy kliniczne ze strony przewodu pokarmowego obserwowano u 5 pacjentów (Aneks 2). Występowanie objawów klinicznych stwierdzono u 2 chorych z rozpoznaną chorobą trzewną (pacjenci SŚ oraz ŚM), jako konsekwencję nieprzestrzegania diety bezglutenowej. U 1 pacjentki (WJ) obserwowano nawracające biegunki, brak apetytu, niedokrwistość z niedoboru żelaza. Po przeprowadzeniu pełnej diagnostyki postawiono rozpoznanie choroby trzewnej. U kolejnego badanego (pacjent CK) występowały okresowe bóle brzucha, ale bez zaburzeń motoryki jelitowej (biegunki, zaparcia) oraz objawów alarmujących (np. krew w stolcu). U 1 badanego (pacjent

SM) występowały nasilone dolegliwości bólowe brzucha z towarzyszącymi biegunkami i obecnością krwi w stolcu. Po przeprowadzeniu pełnej diagnostyki, nie stwierdzono zmian patologicznych w obrębie przewodu pokarmowego. Charakterystykę grupy chorych z cukrzycą i obecnymi przeciwciałami charakterystycznymi dla IBD oraz objawami klinicznymi ze strony przewodu pokarmowego przedstawiono w tabeli 8.

W grupie porównawczej nie obserwowano objawów klinicznych ze strony przewodu pokarmowego.

Tabela 8. Analiza grupy chorych z cukrzycą i obecnymi przeciwciałami charakterystycznymi dla nieswoistych zapaleń jelit oraz współistniejącymi objawami klinicznymi

pleć	wiek [m-ce]	czas trwania cukrzycy [m-ce]	objawy kliniczne	badania diagnostyczne	rozpoznanie
M	121	85	okresowe dolegliwości bólów	badanie endoskopowe (2002)	choroba trzewna
K	210	132	okresowe bóle brzucha	badanie endoskopowe (2005)	choroba trzewna
K	28	1	nawracające biegunki, brak apetytu, bóle brzucha	badanie endoskopowe (2008)	choroba trzewna (nowe zachorowanie)
K	144	37	bóle brzucha, nawracające biegunki	badanie endoskopowe (2006)	brak
M	42	1	krwawienie z dolnego odcinka przewodu pokarmowego, bóle brzucha	badanie endoskopowe (2007)	brak

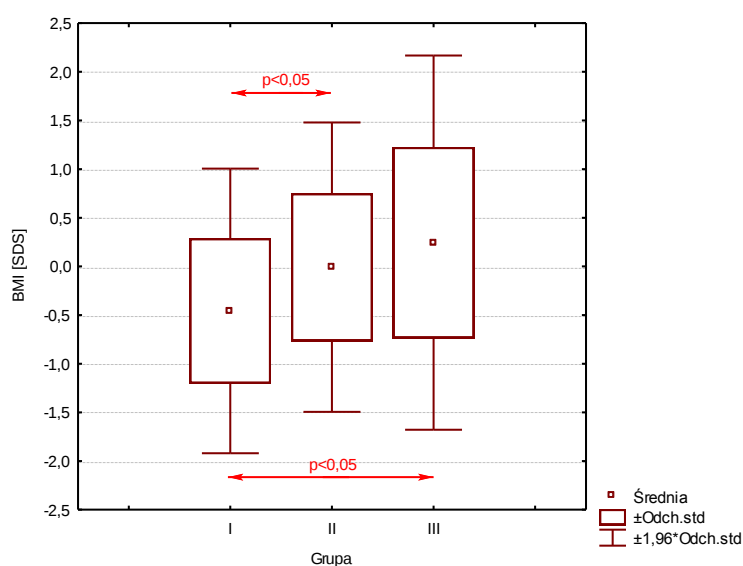
7.3.2. Analiza parametrów auksologicznych oraz zapotrzebowania na insulinę w badanych grupach chorych z cukrzycą

W poszczególnych grupach badanych u pacjentów wykonano badania auksologiczne w zakresie wzrostu, masy ciała oraz obliczono wskaźnik BMI (Aneks 4-6). Otrzymane wyniki wzrostu oraz wskaźnika BMI wyrażono za pomocą SDS. Obliczono także średnią wartość dobowego zapotrzebowania na insulinę. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 9.

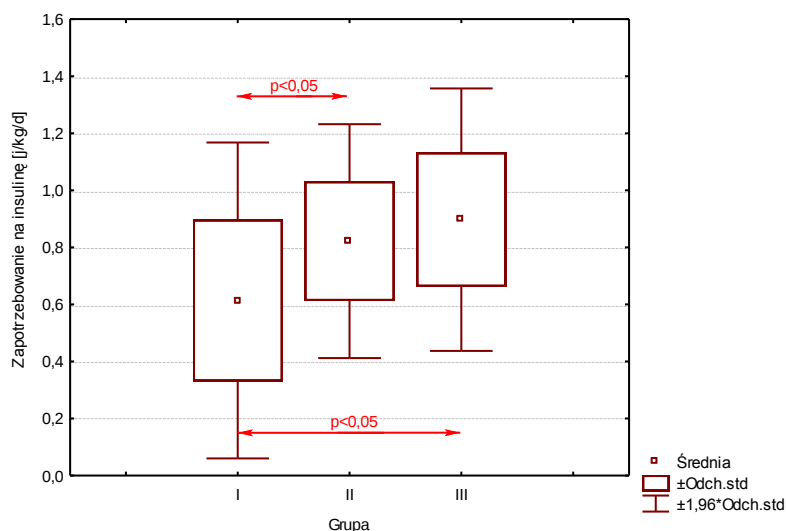
Tabela 9. Analiza wybranych parametrów auksologicznych oraz zapotrzebowania na insulinę w badanych grupach I, II i III

grupa I				grupa II			grupa III		
	średnia	mediana	SD	średnia	mediana	SD	średnia	mediana	SD
wzrost [SDS]	0,20	0,53	1,22	0,24	0,27	1,21	0,25	0,31	0,98
BMI [SDS]	-0,45	-0,45	0,74	-0,007	-0,11	0,75	0,24	-0,06	0,98
zapotrzebowanie na insulinę [j/kg/d]	0,61	0,50	0,28	0,83	0,85	0,21	0,91	0,90	0,22

Porównanie grup badanych pod względem analizowanych parametrów nie wykazało znamiennych różnic w odniesieniu do wzrostu. W przypadku średniej wartości wskaźnika BMI, a także zapotrzebowania na insulinę wykazano istotne statystycznie różnice pomiędzy grupą I a II oraz pomiędzy grupą I a III (ryc. 9-10).



Rycina 9. Porównanie średniej wartości wskaźnika BMI w poszczególnych grupach chorych z cukrzycą



Rycina 10. Porównanie średniego dobowego zapotrzebowania na insulinę w poszczególnych grupach chorych z cukrzycą

7.4. Analiza wybranych parametrów laboratoryjnych w poszczególnych badanych grupach pacjentów z cukrzycą oraz w grupie porównawczej

W poszczególnych grupach chorych z cukrzycą (grupa I, II, III) oraz w grupie porównawczej (grupa IV) oznaczono następujące parametry laboratoryjne: hematokryt (Ht), hemoglobinę (Hb), liczbę erytrocytów (E), liczbę leukocytów (L), liczbę płytek krwi (PLT), wskaźnik MCV, jonogram, białko całkowite, albuminy, aminotransferazę alaninową (ALT), wolną tyroksynę (fT4), hormon tyreotropowy (TSH), przeciwciała a-TPO, cholesterol całkowity (CHL), trójglicerydy (TG), HbA1c, CRP oraz OB. Uzyskane wyniki w badanych grupach chorych z cukrzycą oraz w grupie porównawczej przedstawiono odpowiednio w tabeli 10 oraz tabeli 11.

Tabela 10. Charakterystyka badanych grup chorych z cukrzycą pod względem analizowanych parametrów laboratoryjnych

grupa I (n=31)				grupa II (n=33)			grupa III (n=36)		
zmienna	średnia	SD	mediana	średnia	SD	mediana	średnia	SD	mediana
Ht [%]	40,45	3,32	40,50	40,85	2,83	40,90	41,06	2,41	4,10
Hb [g/dL]	13,57	1,31	13,65	13,77	1,00	13,80	13,82	1,03	13,80
E [mln/ μ L]	4,79	0,29	4,80	4,82	0,29	4,83	4,75	0,39	4,75
L [tys/ μ L]	7,52	2,13	6,85	6,08	1,88	5,80	6,59	1,70	6,55
MCV [fL]	82,03	3,13	81,40	84,92	3,21	85,90	83,07	2,54	82,55
PLT [tys/ μ L]	290,21	66,32	282,00	258,97	59,70	262,00	235,32	35,84	230,00
Na ⁺ [mmol/L]	138,32	2,27	138,00	138,28	2,42	139,00	138,47	2,09	139,00
K ⁺ [mmol/L]	4,39	0,30	4,38	4,28	0,27	4,28	4,27	0,52	4,25
Ca ²⁺ [mmol/L]	2,40	0,11	2,44	2,41	0,05	2,40	2,38	0,06	2,39
Mg ²⁺ [mmol/L]	0,79	0,08	0,81	0,77	0,04	0,77	0,77	0,05	0,77
PO ₄ ³⁻ [mmol/L]	1,40	0,22	1,39	1,35	0,17	1,36	1,30	0,22	1,30
ALT [U/L]	25,76	5,83	25,35	25,41	4,73	26,00	23,21	6,23	23,00
białko całkow. [g/L]	71,71	5,60	73,25	74,36	3,74	74,80	73,61	4,30	73,25
albuminy [g/L]	44,95	2,73	45,00	44,10	2,17	44,00	44,03	2,39	43,00
TSH [ulU/mL]	2,31	0,91	2,15	2,10	1,15	1,70	2,13	0,99	1,75
fT4 [pmol/L]	15,93	2,88	15,60	14,63	3,39	14,80	14,86	1,81	15,05
a-TPO [IU/mL]	232,90	695,62	18,30	191,01	860,16	17,50	408,50	1065,54	12,80
CHL [mmol/L]	4,19	0,76	4,27	4,36	0,90	4,25	4,15	0,75	4,00
TG [mmol/L]	0,91	0,39	0,84	0,78	0,45	0,70	0,73	0,24	0,70
HbA1C [%]	8,88	2,13	8,70	7,38	1,22	7,20	8,00	1,39	7,80
CRP [mg/L]	3,33	0,99	3,13	3,17	0,50	3,13	3,21	0,26	3,17
OB 1h [mm]	-	-	5,00	-	-	5,00	-	-	4,00
OB 2h [mm]	-	-	15,00	-	-	10,00	-	-	12,00

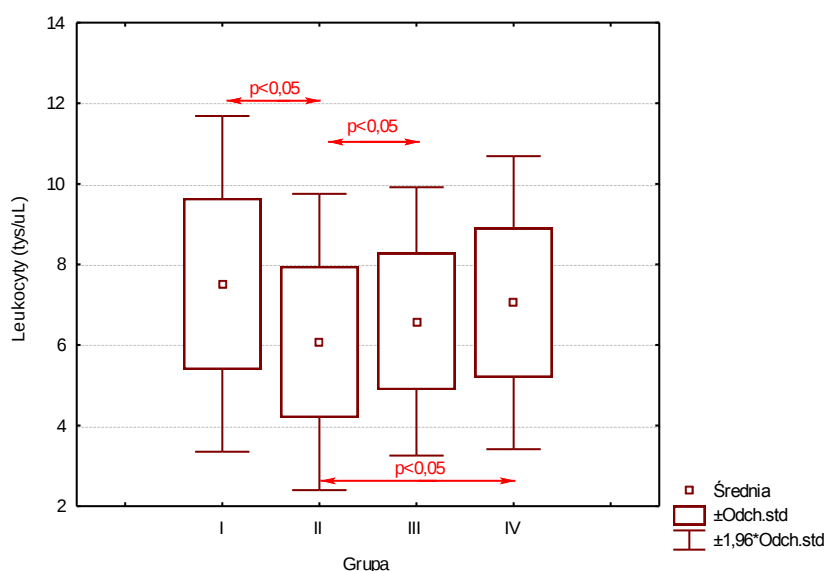
Tabela 11. Charakterystyka grupy porównawczej pod względem analizowanych parametrów laboratoryjnych

grupa IV (n=24)			
zmienna	średnia	SD	mediana
Ht [%]	40,23	2,73	39,90
Hb [g/dL]	13,69	0,83	13,55
E [mln/ μ L]	4,69	0,29	4,65
L [tys/ μ L]	7,05	1,85	6,60
MCV [fL]	83,42	3,75	84,85
PLT [tys/ μ L]	289,15	73,70	282,00
Na ⁺ [mmol/L]	138,75	2,25	139,50
K ⁺ [mmol/L]	4,34	0,35	4,28
Ca ²⁺ [mmol/L]	2,42	0,06	2,40
Mg ²⁺ [mmol/L]	0,79	0,07	0,79
PO ₄ ³⁻ [mmol/L]	1,46	0,07	1,47
ALT [U/L]	21,62	4,85	21,15
białko całkowite [g/L]	77,80	2,73	76,90
albuminy [g/L]	45,92	3,20	46,50
TSH [ulU/mL]	2,36	0,64	2,37
fT4 [pmol/L]	14,44	0,71	14,20
a-TPO [IU/mL]	22,30	18,70	17,10
CHL [mmol/L]	3,82	0,19	3,80
TG [mmol/L]	0,63	0,15	0,60
CRP [mg/L]	3,34	0,63	3,13
OB 1h [mm]	-	-	7
OB 2h [mm]	-	-	10

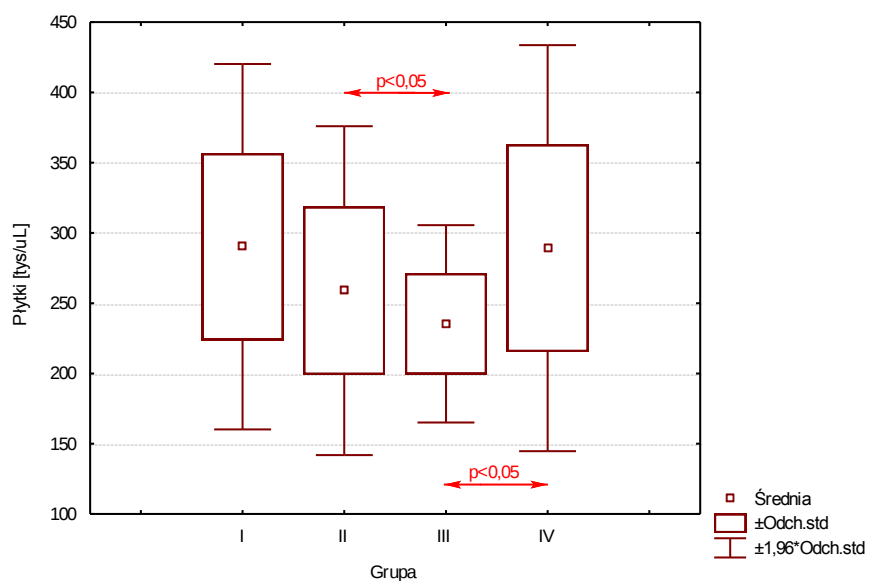
Porównanie grup badanych wykazało następujące zależności pod względem analizowanych parametrów laboratoryjnych:

- leukocyty: istotne statystycznie różnice pomiędzy grupą I i II (7,52 vs 6,08 tys/ μ L), grupą II a III (6,08 vs 6,59 tys/ μ L) oraz grupą II a IV (6,08 vs 7,05 tys/ μ L) (ryc. 11),

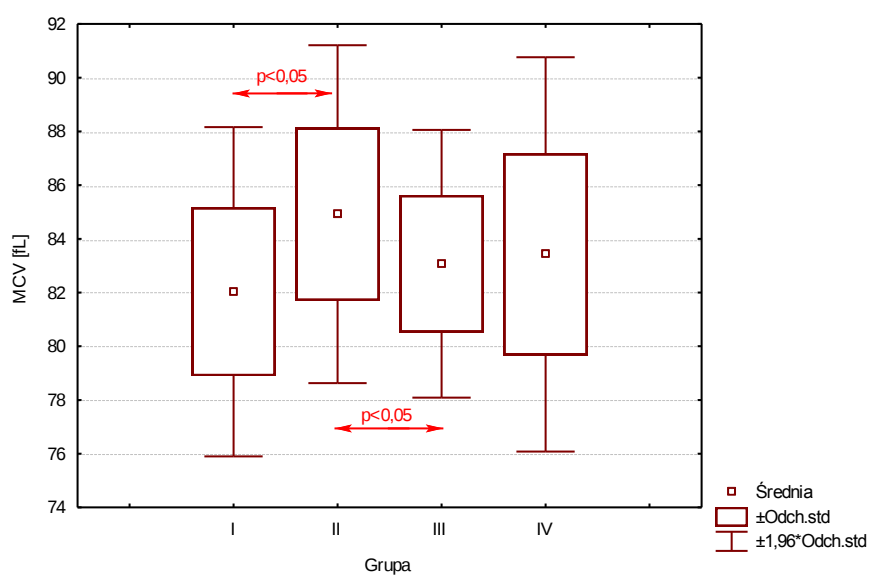
- płytki krwi: istotne statystycznie różnice pomiędzy grupą II i III (258,97 vs 235,52 tys/ μ L) oraz pomiędzy grupą III i IV (235,52 vs 289,15 tys/ μ L) (ryc. 12),
- MCV: istotne statystycznie różnice pomiędzy grupą I i II (82,03 vs 84,92 fL) oraz pomiędzy grupą II i III (84,92 vs 83,07 fL) (ryc. 13),
- białko całkowite: istotne statystycznie różnice pomiędzy wszystkimi grupami chorych z cukrzycą a grupą IV (ryc. 14),
- ALT: istotne statystycznie różnice pomiędzy grupą I i IV (25,76 vs 21,62 U/L) oraz grupą II i IV (25,41 vs 21,62 U/L) (ryc. 15),
- HbA1c: istotne statystycznie różnice pomiędzy grupą I a II (8,88 vs 7,38 %) oraz pomiędzy grupą II i III (7,38 vs 8,00 %) (ryc. 16).



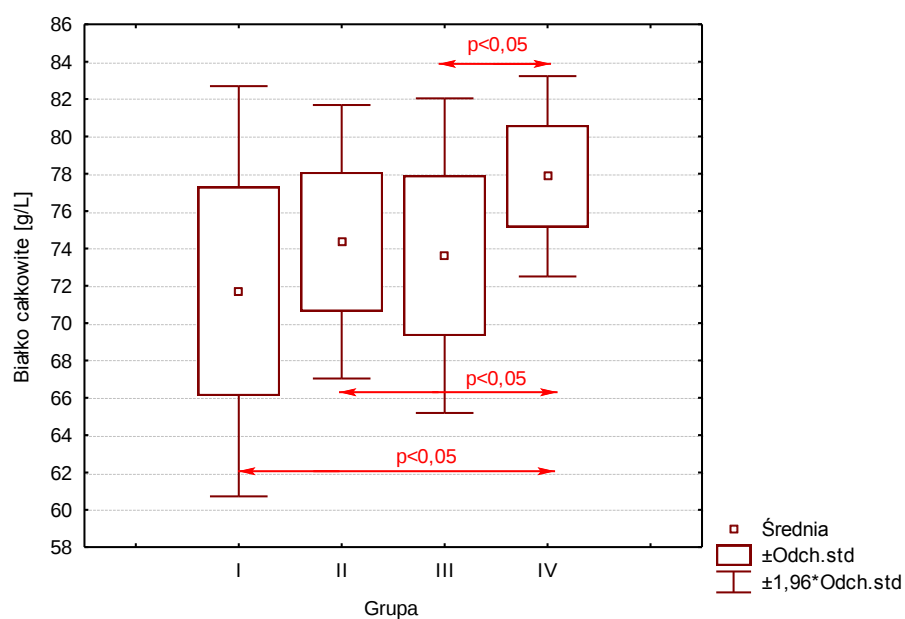
Rycina 11. Porównanie średnich wartości liczby leukocytów w grupach I, II, III i IV.



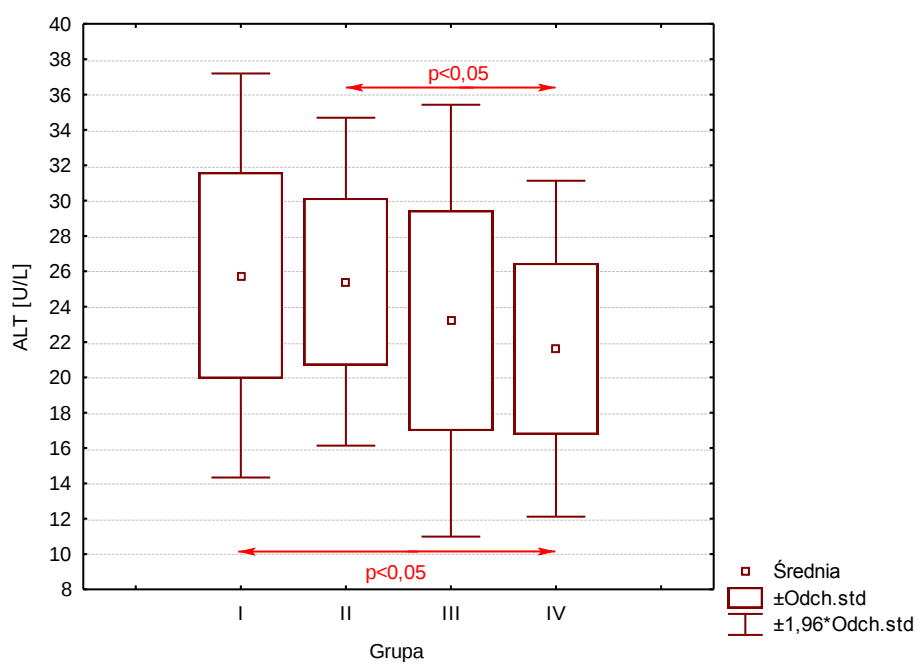
Rycina 12. Porównanie średnich wartości liczby płytek krwi w grupach I, II, III i IV



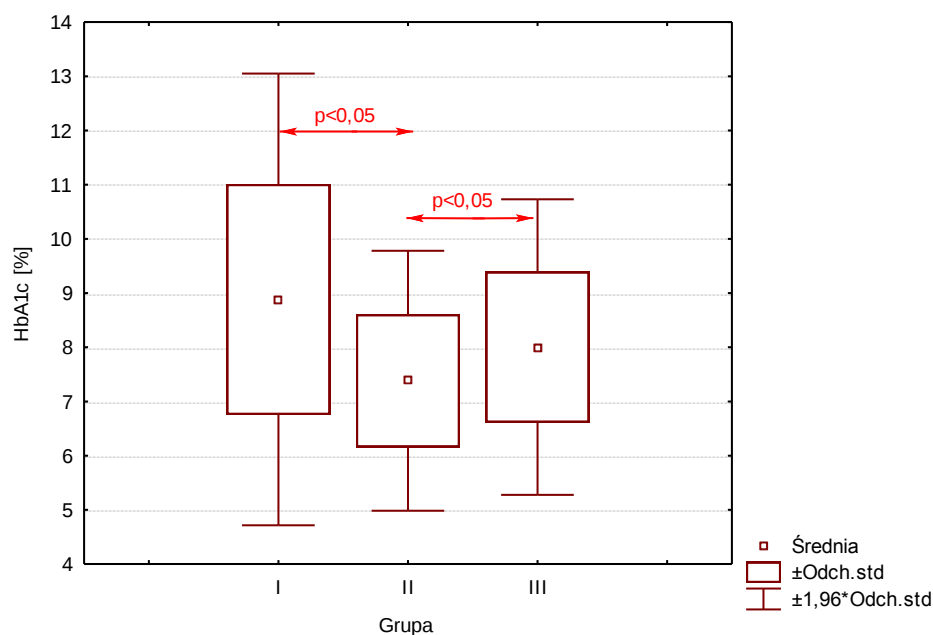
Rycina 13. Porównanie średnich wartości wskaźnika MCV w grupach I, II, III i IV



Rycina 14. Porównanie średnich wartości stężenia białka całkowitego grupach I, II, III i IV



Rycina 15. Porównanie średnich wartości stężenia ALT w grupach I, II, III i IV



Rycina 16. Porównanie średnich wartości odsetka HbA1c w grupach I, II i III

We wszystkich badanych grupach nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie w zakresie następujących parametrów:

- wartości hematokrytu, stężenia hemoglobiny, liczby erytrocytów
- wartości jonogramu
- stężenia albumin, cholesterolu całkowitego, trójglicerydów, prób tarczycowych, przeciwciał a-TPO,
- wartości OB

7.5. Występowanie choroby trzewnej u chorych z cukrzycą

7.5.1. Częstość występowania choroby trzewnej oraz przeciwciał dla endomysium u chorych z cukrzycą typu 1

Oznaczenie przeciwciał EmA wykonano u wszystkich 100 badanych pacjentów z cukrzycą typu 1 (badanie I). Obecność przeciwciał EmA stwierdzono u 4 spośród 8 chorych z potwierdzoną chorobą trzewną. U 4 badanych przeciwciała EmA wykazano po raz pierwszy (nowe rozpoznanie choroby trzewnej). W badaniu II obecność przeciwciał EmA wykazano u 5 spośród 12 pacjentów z rozpoznaną

chorobą trzewną, u 1 badanego stwierdzono obecność przeciwciał EmA po raz pierwszy (tab. 12).

7.5.2. Charakterystyka grupy chorych z cukrzycą i chorobą trzewną

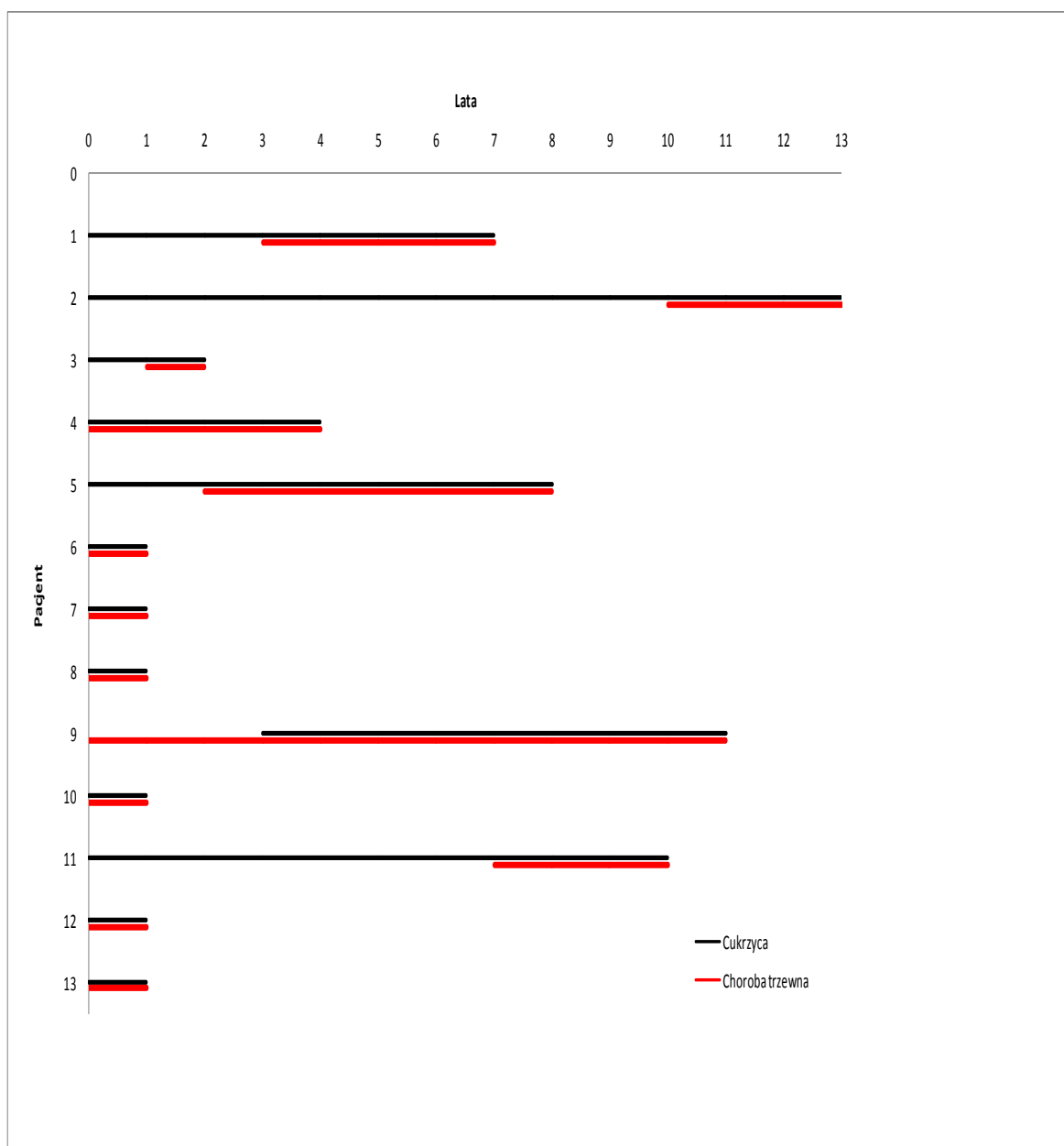
Ogółem badaniem objęto 13 chorych ze współistniejącą cukrzycą i chorobą trzewną. Średnia wieku w tej grupie wynosiła 10 lat i 10 miesięcy (zakres od 2 4/12 do 17 6/12 lat, mediana 11 5/12 lat), średni czas trwania cukrzycy wynosił 3 lata i 5 miesięcy (zakres od 1/12 do 11 lat, mediana 9/12 lat), średnia wartość wskaźnika wynosiła BMI 18,22 kg/m² (zakres od 13,5 do 27,6, mediana 17,6 kg/m²).

Objawy kliniczne ze strony przewodu pokarmowego obserwowano u 2 chorych (pacjenci KZ oraz WJ) z nowo rozpoznaną chorobą trzewną, przed wprowadzeniem diety bezglutenowej. U 2 pacjentów z wieloletnim przebiegiem choroby trzewnej występowały objawy kliniczne (pacjenci ŚM oraz ŚS). W pozostałej grupie chorych z cukrzycą i współistniejącą chorobą trzewną, przebieg kliniczny choroby trzewnej był bezobjawowy (tab. 12).

Tabela 12. Charakterystyka grupy chorych z cukrzycą i chorobą trzewną

n	pacjent	pleć	wiek (m-ce)	czas trwania cukrzycy (m-ce)	czas trwania choroby trzewnej (m-ce)	ocena histopatologiczna (wg Marsha)	EmA (badanie I)	EmA (badanie II)	objawy kliniczne	dieta bezglutenowa
1	GM	K	123	60	24	3a	-	-	-	tak
2	ŚM	K	210	132	12	3a	-	+	+	tak
3	PK	K	173	9	7	1	+	-	-	nie
4	LN	K	200	49	48	3a	-	-	-	tak
5	ŚS	M	121	85	60	4	+	+	+	tak
6	WJ	K	28	1	N	3a	-	++	+	tak
7	KZ	K	81	1	N	3a	+	-	+	tak
8	TW	M	53	1	N	3b	+	-	-	tak
9	HG	M	140	86	120	3a	-	-	-	tak
10	JA	K	138	1	N	1	+	-	-	nie
11	TJ	M	157	109	24	4	+	++	-	tak
12	GT	M	157	8	7	3c	+	+	-	tak
13	MO	K	122	7	N	3a	+	-	-	tak

U 12 pacjentów wystąpienie cukrzycy wyprzedziło rozwój choroby trzewnej, średnio okres ten wynosił 2 lata. Tylko w 1 przypadku (pacjent HG), rozpoznano chorobę trzewną przed rozpoznaniem cukrzycy typu 1 (ryc. 17).



Rycina 17. Występowanie choroby trzewnej u poszczególnych pacjentów w zależności od czasu trwania cukrzycy

7.5.3. Analiza parametrów auksologicznych oraz zapotrzebowania na insulinę w grupie pacjentów z cukrzycą i współistniejącą chorobą trzewną oraz w pozostałej grupie chorych z cukrzycą

W poszczególnych grupach chorych z cukrzycą i współistniejącą chorobą (n=13) trzewną oraz pozostałej grupie chorych z cukrzycą (n=87) wykonano pomiar wzrostu, masy ciała oraz obliczono wskaźnik BMI. Otrzymane wyniki wzrostu i wskaźnika BMI wyrażono za pomocą SDS. Obliczono średnią wartość dobowego zapotrzebowania na insulinę. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 13.

Tabela 13. Analiza wybranych parametrów auksologicznych oraz zapotrzebowania na insulinę w badanych grupach chorych z cukrzycą i chorobą trzewną oraz pozostałej grupie chorych z cukrzycą

grupa chorych z cukrzycą i choroba trzewną (n=13)						grupa chorych z cukrzycą (n= 87)				
	średnia	mediana	SD	min	max	średnia	mediana	SD	min	max
wzrost [SDS]	-0,12	0,11	1,11	-1,6	1,3	0,28	0,42	1,12	-2,4	2,8
BMI [SDS]	-0,14	-0,45	1,47	1,78	2,24	-0,04	-0,11	0,76	2,06	2,51
zapotrzebowanie na insulinę [j/kg/d]	8,19	8,10	1,82	6,05	11,4	7,87	7,45	1,64	5,70	13,6

Porównanie grup badanych pod względem analizowanych parametrów nie wykazało różnic istotnych statystycznie w odniesieniu do wzrostu, wskaźnika BMI oraz dobowego zapotrzebowania na insulinę.

7.5.4. Analiza wybranych parametrów laboratoryjnych w grupie pacjentów z cukrzycą i współistniejącą chorobą trzewną oraz w pozostałej grupie chorych z cukrzycą

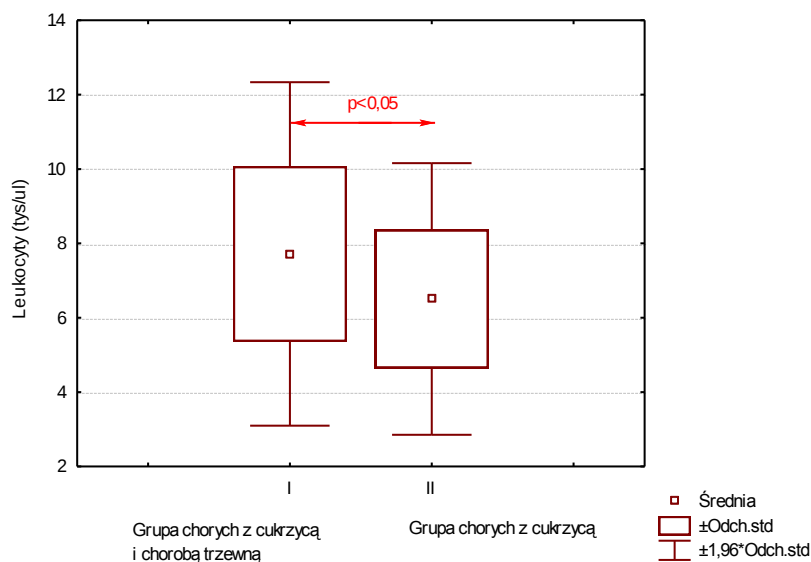
W grupie chorych ze współistniejącą cukrzycą i chorobą trzewną oznaczono następujące parametry laboratoryjne: hematokryt (Ht), hemoglobinę (Hb), liczbę erytrocytów (E), liczbę leukocytów (L), liczbę płytek krwi (PLT), wskaźnik MCV, jonogram, białko całkowite, albuminy, aminotransferazę alaninową (ALT), wolną tyroksynę (fT4), hormon tyreotropowy (TSH), przeciwciała a-TPO, cholesterol całkowity (CHL), trójglicerydy (TG), HbA1c, CRP oraz OB. Dane te porównywano do wyników badań uzyskanych w pozostałej grupie 87 chorych z cukrzycą, bez współistniejącej choroby trzewnej. Wyniki badań przedstawiono w tabeli 14.

Tabela 14. Charakterystyka grupy chorych z cukrzycą i współistniejącą chorobą trzewną oraz pozostałej grupy chorych z cukrzycą pod względem analizowanych parametrów laboratoryjnych

grupa chorych z cukrzycą i chorobą trzewną					grupa chorych z cukrzycą			
zmienna	n	średnia	SD	mediana	n	średnia	SD	mediana
hematokryt [%]	13	40,02	2,78	40,80	87	41,13	2,95	41,00
hemoglobina [g/dL]	13	13,38	1,12	13,60	87	13,80	1,08	13,80
erytrocyty [mln/ μ L]	13	4,80	0,25	4,69	87	4,83	0,35	4,83
leukocyty [tys/ μ L]	13	7,72	2,36	7,60	87	6,51	1,86	6,20
MCV [fL]	13	83,44	3,59	82,10	87	84,99	4,34	85,30
płytki [tys/ μ L]	13	284,85	70,90	289,00	87	259,85	60,91	249,00
Na ⁺ [mmol/L]	13	138,75	2,03	138,00	87	138,72	2,34	139,00
K ⁺ [mmol/L]	13	4,33	0,25	4,28	87	4,31	0,40	4,30
Ca ²⁺ [mmol/L]	12	2,40	0,08	2,38	85	2,40	0,20	2,41
Mg ²⁺ [mmol/L]	12	0,79	0,07	0,78	86	0,76	0,06	0,76
PO ₄ ³⁻ [mmol/L]	13	1,37	0,28	1,36	84	1,37	0,22	1,36
ALT [U/L]	13	22,62	4,52	23,30	83	26,00	9,22	25,00
białko całkowite [g/L]	13	72,52	5,75	73,50	83	73,56	4,54	74,40
albuminy [g/L]	13	44,41	2,90	43,20	87	44,06	2,64	44,00
TSH [uIU/mL]	13	2,20	0,90	2,11	86	2,16	1,03	1,87
ft4 [pmol/L]	12	15,25	1,67	15,40	86	14,98	2,92	14,80
a-TPO [IU/mL]	13	443,69	1126,67	20,65	85	338,09	1106,72	16,95
CHL [mmol/L]	13	4,32	0,80	4,34	84	4,2	0,79	4,07
TG [mmol/L]	13	0,79	0,46	0,80	84	0,81	0,36	0,70
HbA1c [%]	13	7,4	1,28	7,10	85	7,68	1,72	7,50
CRP [mg/L]	13	3,14	0,24	3,13	84	5,56	14,17	3,13
OB 1h [mm]	12	-	-	5,0	87	-	-	4,00
OB 2h [mm]	12	-	-	15,0	87	-	-	12,00

Wykazano istotne statystycznie różnice w odniesieniu do średniej wartości liczby leukocytów w grupie chorych ze współistniejącą cukrzycą i chorobą trzewną, w porównaniu do pozostałej grupy chorych z cukrzycą (7,72 vs 6,51 tys/ μ L, $p < 0,05$) (ryc. 18). W zakresie pozostałych parametrów morfologii krwi, wartości

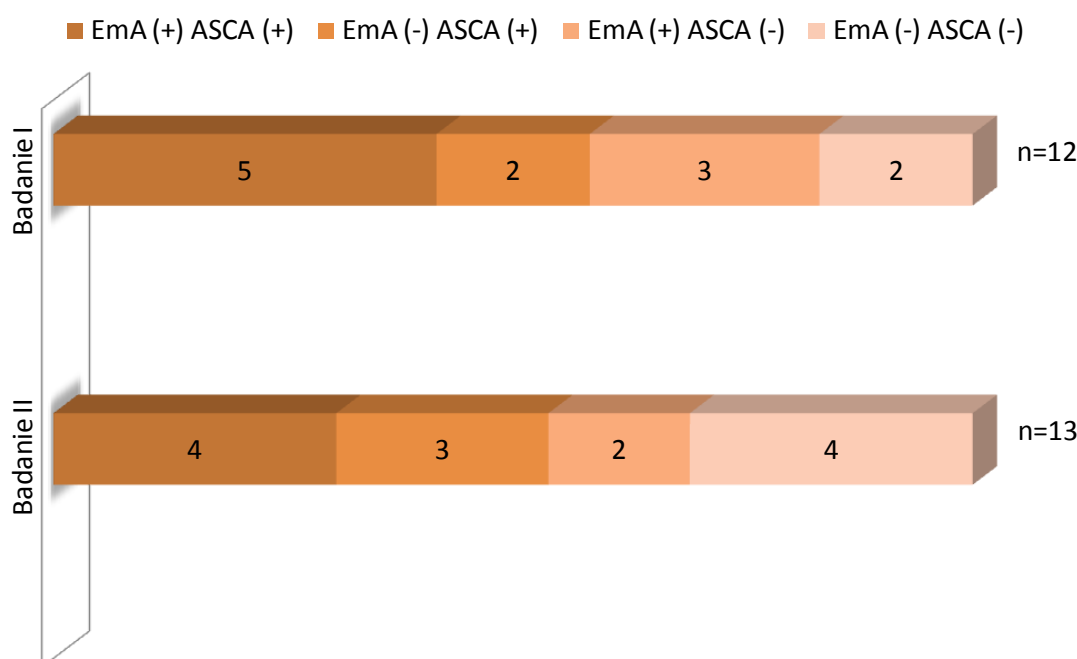
jonogramu, stężenia białka całkowitego, albumin, prób tarczycowych, cholesterolu całkowitego, trójglicerydów, CRP, odsetka HbA1c oraz wartości OB nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie.



Rycina 18. Porównanie średniej wartości liczby leukocytów w badanej grupie chorych z cukrzycą i chorobą trzewną oraz w pozostałej grupie chorych z cukrzycą

7.5.5. Zależność między występowaniem przeciwciał przeciw endomysium oraz przeciwciał przeciw *Saccharomyces cerevisiae* u chorych z cukrzycą i chorobą trzewną

W badaniu I spośród 12 pacjentów z cukrzycą i chorobą trzewną, obecność przeciwciał ASCA stwierdzono u 7 badanych. W 5 przypadkach przeciwciała ASCA współwystępowały z przeciwciałami EmA, u 2 badanych wykazano obecność przeciwciał ASCA, bez obecności przeciwciał EmA. U 3 pacjentów wykazano tylko występowanie przeciwciał EmA, a u 2 badanych nie stwierdzono obecności przeciwciał zarówno EmA, jak i ASCA (ryc 19). W badaniu II, w którym uczestniczyło 13 badanych z chorobą trzewną, obecność przeciwciał ASCA stwierdzono u 7 badanych. W 4 przypadkach przeciwciała ASCA współwystępowały z przeciwciałami EmA, natomiast u 3 badanych wykazano przeciwciała ASCA bez obecności przeciwciał EmA. Wyłączne występowanie przeciwciał EmA wykazano u 2 chorych z chorobą trzewną (ryc. 19).



Rycina 19. Występowanie przeciwciał EmA i ASCA w grupie chorych z cukrzycą i współistniejącą chorobą trzewną (badanie I i II)

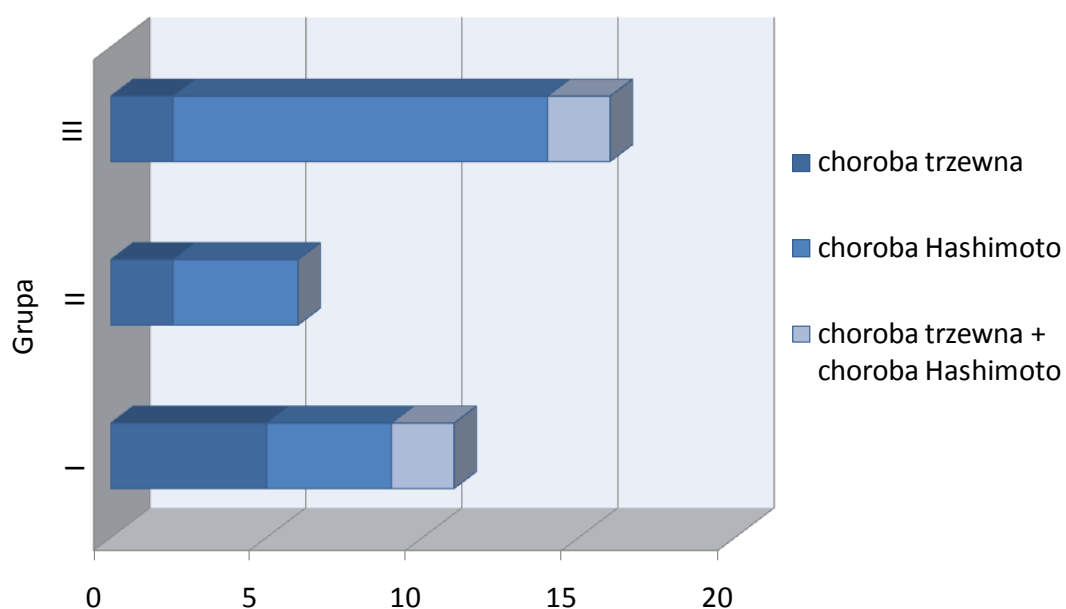
U pacjentów z chorobą trzewną i obecnymi przeciwciałami ASCA (7 badanych) w większości przypadków stwierdzono występowanie przeciwciał EmA. Może to świadczyć o wpływie utrzymujących się zmian zapalnych w obrębie błony śluzowej przewodu pokarmowego, będących wynikiem braku lub nieprawidłowo stosowanej diety eliminacyjnej, na powstawanie przeciwciał ASCA. Obliczony iloraz szans OR (95% CI) wynosił odpowiednio: badanie I-1,67 (1,18-16,02); badanie II-2,66 (0,30-22,47), wskazuje na wzrost ryzyka wystąpienia przeciwciał ASCA u chorych z chorobą trzewną, przy dodatnim wyniku oznaczenia przeciwciał EmA. Do zweryfikowania hipotezy zastosowano test χ^2 , ale ze względu na małą liczebność grup, nie uzyskano jednoznacznych wyników. Obliczone ryzyko względne (RR) dla badania I oraz II również nie było istotne statystycznie.

7.6. Współwystępowanie schorzeń autoimmunizacyjnych i cukrzycy typu

Spośród 100 chorych z cukrzycą typu 1 objętych badaniem, podwyższone stężenie przeciwciał a-TPO stwierdzono u 24 badanych. Pacjenci, u których wykazano podwyższone wartości przeciwciał a-TPO należeli odpowiednio:

6 badanych do grupy I, 4 badanych do grupy II, 14 badanych do grupy III. Średnie wartości stężenia prób tarczycowych (TSH, fT4) w poszczególnych badanych grupach, nie wykazywały różnic istotnych statystycznie (tab.10). W większości przypadków nie obserwowano objawów klinicznych, wynikających z podwyższonego stężenia przeciwciał a-TPO. Tylko u 2 pacjentów obserwowano klinicznie jawną niedoczynność tarczycy.

Ogółem spośród 100 chorych z cukrzycą, u 33 pacjentów stwierdzono współistnienie dodatkowego schorzenia autoimmunizacyjnego, wymagającego leczenia i/lub stałego monitorowania (pacjenci z obecnymi przeciwciałami, ale bez zmian narządowych) (ryc. 20).



Rycina 20. Częstość występowania schorzeń współistniejących w grupie 100 chorych z cukrzycą typu I

8. Dyskusja

Założeniem niniejszej pracy była ocena częstości występowania oraz rodzaju przeciwciał charakterystycznych dla autoimmunizacyjnych chorób jelit u chorych z cukrzycą typu 1 oraz określenie ich znaczenia klinicznego. W tym celu, w grupie 100 chorych z cukrzycą przeprowadzono wywiad, badanie fizykalne, wykonano badania aukuologiczne, laboratoryjne oraz dwukrotnie, w odstępie 6 miesięcy oceniono występowanie przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit (ANCA, PAb, GAb, ASCA) oraz choroby trzewnej (EmA) (badanie I oraz II).

W badaniu I obecność przeciwciał charakterystycznych dla IBD wykazano u 26 spośród 100 pacjentów z cukrzycą. Występowanie przeciwciał ASCA w klasie IgG stwierdzono w 25 przypadkach (w tym u 6 pacjentów łącznie z przeciwciałami PAb), a u 1 badanego wykazano obecność przeciwciał GAb. W badaniu II uzyskano potwierdzenie występowania przeciwciał charakterystycznych dla IBD u 24 chorych, w tym w 23 przypadkach stwierdzono obecność przeciwciał ASCA w klasie IgG (u 5 pacjentów łącznie z przeciwciałami PAb), a u 1 pacjenta przeciwciała GAb. Zarówno w badaniu I, jak i w badaniu II, w większości przypadków wykazano obecność przeciwciał ASCA, charakterystycznych dla CD. Nie stwierdzono obecności przeciwciał ANCA, typowych dla CU grupie chorych z cukrzycą.

Przeprowadzono analizę częstości występowania przeciwciał charakterystycznych dla IBD w 3 grupach pacjentów, w zależności od czasu trwania cukrzycy. Grupę I stanowiło 31 chorych z krótkim, poniżej 2 lat czasem trwania cukrzycy, do grupy II włączono 33 pacjentów z przebiegiem cukrzycy od 2 do 6 lat, natomiast grupę III stanowiło 36 pacjentów z długoletnim, powyżej 6 lat przebiegiem cukrzycy. Niski odsetek występowania przeciwciał charakterystycznych dla IBD stwierdzono w grupie II, natomiast wysoki odsetek tych przeciwciał wykazano w grupach I oraz III. Powyższe dane wskazują na brak zależności pomiędzy czasem trwania cukrzycy a występowaniem przeciwciał charakterystycznych dla IBD.

Badanie I objęło 12 pacjentów z cukrzycą oraz współistniejącą chorobą trzewną, w tym w 8 przypadkach rozpoznano chorobę trzewną przed rozpoczęciem badania, natomiast u 4 pacjentów zdiagnozowano chorobę trzewną w trakcie trwania badania. Występowanie przeciwciał EmA stwierdzono u 4 spośród 8 pacjentów z chorobą trzewną oraz u 4 pacjentów z nowym rozpoznaniem choroby trzewnej.

Badanie II objęło 13 chorych z cukrzycą oraz chorobą trzewną. W badaniu tym obecność przeciwciał EmA wykazano u 5 spośród 12 badanych z chorobą trzewną oraz dodatkowo u 1 badanego stwierdzono obecność przeciwciał EmA po raz pierwszy (nowe zachorowanie). Pacjenci ze współistniejącą cukrzycą i chorobą trzewną należeli odpowiednio: 7 badanych do grupy I, 2 badanych do grupy II, 4 badanych do grupy III.

Wszyscy badani pacjenci, u których stwierdzono obecność przeciwciał charakterystycznych dla autoimmunizacyjnych schorzeń jelit zostali skierowani do Poradni Gastroenterologicznej. U tych chorych wykonano badania diagnostyczne prowadzone poza protokołem, zgodne ze standardami postępowania określonymi dla danego schorzenia.

8.1. Współwystępowanie schorzeń autoimmunizacyjnych

Interesującym aspektem klinicznym schorzeń autoimmunizacyjnych, świadczącym o ich prawdopodobnym wspólnym patomechanizmie, jest skłonność do rodzinnego występowania różnych zaburzeń tego typu, a także do współistnienia kilku chorób u jednej osoby. Cukrzyca typu 1 jest schorzeniem często współwystępującym z innymi chorobami o podłożu autoimmunizacyjnym, takimi jak choroba Hashimoto, choroba Addisona, autoimmunizacyjne zapalenie wątroby oraz choroba trzewna [103,135].

Schorzenia tarczycy są najczęstszymi endokrynopatiami, które towarzyszą cukrzycy typu 1 [83,87,149]. Prezentują one bardzo niejednorodny obraz kliniczny, w którym stwierdza się zarówno niedoczynność tarczycy (choroba Hashimoto), jak i nadczynność tarczycy (choroba Gravesa i Basedowa), a także zmiany subkliniczne, przebiegające z dyskretnymi objawami dysfunkcji tarczycy. Podwyższone stężenie przeciwciał a-TPO obserwuje się u około 20-40% pacjentów z cukrzycą typu 1, niezależnie od objawów klinicznych [17,83,84]. Występowanie podwyższonych wartości stężeń przeciwciał a-TPO w populacji dzieci z cukrzycą w Polsce wykazano u 34% badanych, przy czym podwyższone wartości tych przeciwciał obserwowano dwukrotnie częściej u dziewcząt niż u chłopców. Zaburzenia funkcji tarczycy, głównie pod postacią niedoczynności tarczycy obserwowano u ok. 4% badanych, w jednym przypadku rozpoznano nadczynność tarczycy [73]. W innych badaniach wykazano, że po około 3 latach od stwierdzenia podwyższonego stężenia przeciwciał

a-TPO, u połowy chorych obserwuje się zaburzenia funkcji tarczycy (podwyższenie poziomu TSH) i/lub nieprawidłowości gruczołu tarczowego w badaniu ultrasonograficznym [81]. Dyskusyjny pozostaje sposób postępowania z pacjentami, u których jedyną nieprawidłowością jest obecność przeciwciał przeciwtarczycowych. Opisano korzyści wynikające z leczenia preparatami L-tyroksyny, wpływające na zmniejszenie objętości gruczołu tarczowego [82]. Natomiast nie wykazano wpływu takiego postępowania na zapobieganie rozwojowi niedoczynności tarczycy [75]. W badaniu własnym obecność przeciwciał a-TPO stwierdzono u 24 badanych, natomiast tylko u 2 pacjentów rozpoznano klinicznie jawną niedoczynność tarczycy, co jest zgodne z danymi z piśmiennictwa [73,84].

Współwystępowanie choroby trzewnej i cukrzycy typu 1 jest znacząco wyższe, i szacowane na 2-10% w zależności od badanej populacji [10,29,44,122]. Jednym z najważniejszych czynników warunkujących wysoką częstość współwystępowania powyższych schorzeń jest czynnik genetyczny, a mianowicie genotyp HLA DQ2, DQ8 (allele DQA1*0501, DQB1*0201) odpowiedzialny za predyspozycję do rozwoju zarówno cukrzycy, jak i choroby trzewnej [103].

Większość przypadków choroby trzewnej u chorych z cukrzycą ma przebieg skąpo- lub bezobjawowy i jest wykrywana jedynie w oparciu o wyniki serologicznych badań przesiewowych [10]. W badaniu własnym objawy kliniczne ze strony przewodu pokarmowego (ból brzucha, okresowe biegunki) obserwowano u 4 spośród 13 pacjentów z chorobą trzewną. W 2 przypadkach objawy występowały u pacjentów z nowym rozpoznaniem choroby trzewnej, przed wprowadzeniem diety bezglutenowej. U pacjentów z wieloletnim przebiegiem choroby trzewnej, w 2 przypadkach obserwowano dolegliwości bólowe, głównie wynikające z nieprzestrzegania diety bezglutenowej. Potwierdza to skąpoobjawowy przebieg choroby trzewnej u większości pacjentów z cukrzycą, a także istotną rolę badań przesiewowych w diagnostyce tego schorzenia.

Rozwój cukrzycy typu 1 w większości przypadków wyprzedza rozpoznanie choroby trzewnej [10,111]. Na podstawie wieloośrodkowego badania, obejmującego grupę ponad 4000 chorych z cukrzycą ustalono, że u 75% dzieci i młodzieży rozpoznano chorobę trzewną podczas pierwszych 4 lat trwania cukrzycy. Autorzy badań zaobserwowali, że wraz z wydłużaniem czasu trwania cukrzycy, zmniejsza się częstość występowania choroby trzewnej. U pacjentów z cukrzycą trwającą powyżej 9 lat, rozwój choroby trzewnej jest sporadyczny [21]. Inne badania potwierdzają

zwiększoną częstość występowania choroby trzewnej w początkowym okresie cukrzycy, jednak podkreślają możliwość pojawienia się choroby trzewnej w dowolnym okresie przebiegu cukrzycy [10,29]. W badaniu własnym, w większości przypadków chorobę trzewną zdiagnozowano po rozpoznaniu cukrzycy (średnia wartość - 24 miesiące), tylko w 1 jednym przypadku zachorowanie na chorobę trzewną wyprzedziło rozpoznanie cukrzycy.

Dane literaturowe dotyczące wpływu choroby trzewnej na przebieg oraz wyrównanie metaboliczne pacjentów z cukrzycą typu 1 są niejednoznaczne. Istnieją doniesienia o zwiększonej częstości epizodów hipoglikemii, ze zmniejszeniem zapotrzebowania na insulinę, zarówno przed ustaleniem rozpoznania choroby trzewnej, jak również w ciągu pierwszych 6 miesięcy stosowania diety bezglutenowej u pacjentów z cukrzycą [60]. Inne badania dotyczące wpływu choroby trzewnej na przebieg cukrzycy nie potwierdzają tych obserwacji [29,93]. Również badanie przeprowadzone w ośrodku krakowskim nie wykazało różnic w odniesieniu do wartości odsetka HbA1c, zapotrzebowania na insulinę oraz występowania ciężkich epizodów hipoglikemii u pacjentów z cukrzycą i współistniejącą chorobą trzewną. Po wprowadzeniu diety bezglutenowej stwierdzono zwiększenie masy ciała oraz poprawę szybkości wzrastania, bez wpływu na wartość odsetka HbA1c czy zapotrzebowania na insulinę [50]. Natomiast uważa się, że wprowadzenie diety bezglutenowej u pacjentów z cukrzycą i chorobą trzewną zapobiega występowaniu osteopenii/osteoporozy, spowodowanej obecnością tych dwóch przewlekłych schorzeń. Dodatkowo zmniejsza się ryzyko rozwoju nowotworów, a w szczególności chłoniaków przewodu pokarmowego [20,44]. Istnieją doniesienia, że wprowadzenie diety bezglutenowej u pacjentów z chorobą trzewną może zapobiegać rozwojowi innych schorzeń autoimmunizacyjnych, jednak wymaga to dalszych obserwacji [20,154]. W badaniu własnym w grupie chorych z współistniejącą cukrzycą i chorobą trzewną wykazano wyższe wartości liczby leukocytów, w porównaniu do pozostałej grupy pacjentów z cukrzycą. Nie wykazano natomiast różnic w pozostałych parametrach laboratoryjnych, m.in. w odsetku HbA1c, w grupie chorych z cukrzycą i chorobą trzewną w odniesieniu do grupy chorych z cukrzycą bez współistniejącej choroby trzewnej.

Dane z piśmiennictwa wskazują na zwiększoną częstość występowania nieswoistych zapaleń jelit u pacjentów z chorobą trzewną [79]. Natomiast wyniki badań oceniających częstość występowania choroby trzewnej u pacjentów

z IBD są niejednoznaczne [89]. W obu schorzeniach obserwuje się występowanie przeciwciał, uważanych dotychczas za swoiste dla określonej jednostki chorobowej, takich jak przeciwciała tTGA swoiste dla choroby trzewnej, czy przeciwciała ASCA uważane za marker CD. Wykazanie obecności przeciwciał tTGA w CD czy przeciwciał ASCA w chorobie trzewnej, może być konsekwencją uszkodzenia ściany jelita w wyniku procesu zapalnego o podłożu autoimmunizacyjnym [12]. W badaniu własnym, stwierdzono obecność przeciwciał ASCA u pacjentów z chorobą trzewną, zwłaszcza u tych chorych, u których występowały przeciwciała EmA surowicy. Współwystępowanie przeciwciał ASCA oraz EmA wykazano u 5 spośród 12 chorych w badaniu I (41,0%) oraz u 4 spośród 13 pacjentów w badaniu II (30.5%). Obserwacje te są zgodne z dostępnymi danymi w piśmiennictwie, w których częstość występowania przeciwciał ASCA w chorobie trzewnej jest określana na około 30%, a ich zanik wiąże się z wprowadzeniem diety bezglutenowej [12].

W przebiegu IBD obserwuje się wzmożoną predyspozycję do współistnienia innych zaburzeń autoimmunizacyjnych, m.in reumatoidalnego zapalenia stawów, łuszczycy, stwardnienia rozsianego [28]. Badania dotyczące IBD i cukrzycy nie wskazują na zwiększoną częstość ich współwystępowania. Istnieją natomiast doniesienia o "wspólnych" miejscach w genomie związanych z predyspozycją do rozwoju cukrzycy typu 1 oraz IBD (1p13, 18p11, 12q24, 4q27), co stwarza potencjalną możliwość ich współwystępowania [141,152,168]. W badaniu własnym, u 24 chorych z cukrzycą wykazano dwukrotnie obecność w surowicy przeciwciał charakterystycznych dla CD. W tej grupie chorych, w większości przypadków nie stwierdzono objawów klinicznych ze strony przewodu pokarmowego. W wynikach badań laboratoryjnych obserwowano istotne statystycznie różnice dotyczące wartości liczby leukocytów, wskaźnika MCV oraz odsetka HbA1c. Może to sugerować związek obecności tych przeciwciał z utrzymującym się stanem zapalnym w obrębie przewodu pokarmowego (wzrost wartości liczby leukocytów), jak i zaburzeniami wchłaniania (obniżona wartość wskaźnika MCV). Dodatkowo wyższy odsetek HbA1c w grupach z obecnymi przeciwciałami charakterystycznymi dla IBD, może wskazywać na związek występowania tych przeciwciał z wyrównaniem metabolicznym cukrzycy.

Sama obecność przeciwciał nie przesądza o rozwoju danego schorzenia autoimmunizacyjnego, świadczy jednak o podwyższonym ryzyku zachorowania, w porównaniu do populacji ogólnej. W związku z powyższym, pacjenci z cukrzycą,

u których stwierdzono immunologiczne markery dodatkowego schorzenia autoimmunizacyjnego przy braku pełnej ekspresji klinicznej choroby, wymagają dalszej obserwacji klinicznej w tym kierunku.

8.2. Rola bariery jelitowej w patogenezie cukrzycy typu 1, nieswoistych zapaleniach jelit oraz chorobie trzewnej

W patogenezie chorób autoimmunizacyjnych podkreśla się obecnie istotną rolę bariery jelitowej [57,126,158]. W warunkach prawidłowych nabłonek jelitowy, dzięki szczelnym połączeniom międzykomórkowym, należy do barier chroniących przed patogenami, z równoczesną funkcją selektywną, warunkując prawidłową odpowiedź immunologiczną [150]. Komórki nabłonka jelitowego „prowadzą kontrolę” i selekcję ilości oraz rodzaju antygenów, przenikających do układu GALT nabłonka jelitowego i blaszki właściwej ściany jelita. Uszkodzenie bariery jelitowej i przenikanie nieselekcjonowanych antygenów pobudza reakcję, w której kluczową rolę odgrywa układ GALT wraz z komórkami immunokompetentnymi [42]. Opisano nieprawidłowości w funkcjonowaniu błony śluzowej jelit, pod postacią zwiększonej przepuszczalności u pacjentów z chorobą trzewną [38,158]. Badania ostatnich lat doprowadziły do wyizolowania czynników odpowiedzialnych za integralność połączeń międzykomórkowych, m.in. zonuliny oraz kompleksów E-kadheryny z β -kateniną, których zmniejszoną ekspresję stwierdzono w chorobie trzewnej [38]. Pierwotne mechanizmy odpowiedzialne za uszkodzenie bariery jelitowej i wyzwolenie reakcji immunologicznej u chorych z chorobą trzewną nie zostały jednak do końca poznane. Istnieje hipoteza, że uszkodzenie bariery jelitowej, zmiana przepuszczalności dla patogenów i modyfikacja odpowiedzi na nie, jest także czynnikiem indukującym naciek komórek immunokompetentnych w wyspach trzustkowych i rozwój cukrzycy typu 1. Niektóre antygeny, zgodnie z tą hipotezą modyfikują powierzchnię komórek β wysp trzustki, przez co ułatwiają reakcję immunologiczną [126]. W patomechanizmie rozwoju CD również opisuje się fazę wzrostu przepuszczalności błony śluzowej [57]. Według danych literaturowych, zarówno u pacjentów z CD oraz u znacznego odsetka krewnych I stopnia stwierdza się tzw. „zespół nieszczelnego jelita” [158]. Uważa się, że zaburzenia funkcjonowania bariery jelitowej w CD mogą być uwarunkowane genetycznie [36]. Wykazano, że obecność przeciwciał ASCA u chorych z CD koreluje ze zwiększoną

przepuszczalnością błony śluzowej, mierzoną testami z laktulozą czy mannozą [53]. Wykazanie przeciwciał ASCA wskazuje bowiem na kontakt antygenu *Saccharomyces cerevisiae* z układem GALT, co pośrednio sugeruje „nieszczelność” bariery jelitowej. Podobna interpretacja dotyczy obecności przeciwciał przeciw gliadynie w chorych z chorobą trzewną [157].

Czas trwania etapu wzmożonej przepuszczalności błony śluzowej jelita, poprzedzającego dalsze zjawiska, prowadzące do objawów uszkodzenia błony śluzowej i stanu zapalnego w chorobie trzewnej czy też w CD nie jest znany. W tej sytuacji wykazanie obecności przeciwciał rozumianych jako efekt wzrostu przepuszczalności błony śluzowej nie jest jednoznaczny z rozwojem danego schorzenia. Wskazuje natomiast na ryzyko wystąpienia dalszych etapów procesu autoimmunizacyjnego w obrębie błony śluzowej przewodu pokarmowego.

8.3. Wartość predykcyjna przeciwciał w schorzeniach autoimmunizacyjnych

Nie określono czasu trwania procesu autoimmunizacyjnego, który jest przyczyną wystąpienia objawów uszkodzenia funkcjonalnego i morfologicznego danego narządu. Objawy kliniczne mogą występować po wielu latach od stwierdzenia obecności przeciwciał w surowicy, co jest prawdopodobnie zależne od intensywności procesu autoimmunizacji. Możliwości określenia dynamiki zmian w obrębie danego narządu oraz tempa narastania zmian funkcjonalno-morfologicznych w fazie przedklinicznej są ograniczone. Wykazanie przeciwciał w surowicy wydaje się być jedynym pośrednim dowodem, potwierdzającym proces autoimmunizacyjny. Wartość predykcyjna przeciwciał w poszczególnych schorzeniach o podłożu autoimmunizacyjnym jest szeroko dyskutowana w piśmiennictwie [16,17,133]. Przeciwciała wykrywane w surowicy w fazie przedklinicznej, na wiele lat przed rozwojem danego schorzenia, są markerami o wysokiej wartości predykcyjnej wyniku dodatniego (*positive predictive value*, PPV). Przykładem są przeciwciała przeciw natywnemu DNA, charakterystyczne dla toczenia rumieniowatego (*double-stranded DNA*, dsDNA). Ich obecność w surowicy wyprzedza o 7-10 lat objawy kliniczne tej jednostki chorobowej, a wartość predykcyjna dodatniego wyniku wynosi 94-100%. W przypadku twardziny przeciwciała przeciw topoizomerazie 1 oraz centromerom są wykrywane na około 11 lat przed kliniczną manifestacją choroby (PPV-100%) [16,17,133]. W schorzeniach

narządowo-swoistych, takich jak pierwotna marskość żółciowa wątroby (*primary biliary cirrhosis*, PBC), choroba Hashimoto, cukrzyca typu 1, choroba trzewna czy CD wartość predykcyjna przeciwciał jest podobna, jak w schorzeniach układowych. Przeciwciała przeciw mitochondriom, charakterystyczne dla PBC są obecne w surowicy nawet 25 lat przed kliniczną manifestacją choroby (PPV powyżej 95%). W odniesieniu do zapalenia tarczycy typu Hashimoto wartość predykcyjna przeciwciał a-TPO wynosi około 90% [133,153], a w chorobie trzewnej dla przeciwciał tTGA wynosi około 50-60% [133,134].

Wartość predykcyjna przeciwciał ICA, IAA, IA-2A, GADA w przewidywaniu ryzyka zachorowania na cukrzycę typu 1 u osób z genetyczną predyspozycją, wynosi około 30% (pojedynczy wynik pozytywny). W przypadku stwierdzenia dwóch i więcej przeciwciał, ryzyko rozwoju cukrzycy w okresie 3 lat wynosi około 40%, w okresie 5 lat ryzyko to wzrośnie do około 70%. W przypadku łącznego stwierdzenia trzech rodzajów przeciwciał 5-letnie ryzyko rozwoju cukrzycy wynosi 100% [14,78,91,169,155].

Na podstawie danych literaturowych, dotyczących wartości predykcyjnej przeciwciał ASCA wykazano, że czas od pojawienia się markerów serologicznych, do wystąpienia objawów klinicznych CD wynosił średnio 3 lata [63]. Swoistość i wartość PPV wynosiła 100%, ale przy niskiej czułości, wynoszącej około 30%. Ocena obecności przeciwciał charakterystycznych dla IBD stanowi więc nie tylko pomoc w diagnostyce różnicowej, ale także pozwala na wyselekcjonowanie grupy pacjentów zagrożonych rozwojem tego schorzenia, aktualnie nie wykazujących objawów klinicznych.

Z uwagi na postulowane w piśmiennictwie wspólne podłoże genetyczne oraz rolę bariery jelitowej w patomechanizmie rozwoju zarówno cukrzycy typu 1, jak również CD oraz wysoką wartość predykcyjną przeciwciał w schorzeniach o podłożu autoimmunizacyjnym, wykazana w pracy obecność przeciwciał charakterystycznych dla IBD stanowi wskazanie do wieloletniej obserwacji i monitorowania pacjentów obciążonych ryzykiem rozwoju CD. Wyselekcjonowanie pacjentów z cukrzycą i obecnymi przeciwciałami charakterystycznymi dla IBD pozwala na obserwację i uzyskanie dalszych informacji o czasie trwania okresu bezobjawowego oraz ewentualnego określenia częstości występowania choroby Leśniowskiego i Crohna w grupie chorych z cukrzycą typu 1.

9. Wnioski

1. Przeciwciała charakterystyczne dla nieswoistych zapaleń jelit występują znacznie częściej u chorych z cukrzycą typu 1, niż w grupie porównawczej (25% vs 0%). Rodzaj przeciwciał jest w większości przypadków charakterystyczny dla choroby Leśniowskiego i Crohna, a ich obecność ma charakter trwały.
2. Występowanie przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit nie zależy od czasu trwania choroby podstawowej, natomiast zależy od stopnia wyrównania cukrzycy. Nie stwierdza się takich zależności w odniesieniu do choroby trzewnej.
3. W grupach chorych z cukrzycą i obecnymi przeciwciałami charakterystycznymi dla nieswoistych zapaleń jelit nie stwierdzono w większości przypadków objawów klinicznych ze strony przewodu pokarmowego. Wykazano jednak istotne statystycznie różnice w badaniach laboratoryjnych (liczba leukocytów, wskaźnik MCV), wskazujących na występowanie przewlekłego stanu zapalnego oraz zaburzeń wchłaniania w tej grupie chorych.
4. Spośród pacjentów ze współistniejącą cukrzycą typu 1 i chorobą trzewną, w około 30% przypadków stwierdzono występowanie przeciwciał przeciw endomysium łącznie z przeciwciałami przeciw *Saccharomyces cerevisiae*. Może to świadczyć o wpływie utrzymujących się zmian zapalnych w obrębie przewodu pokarmowego na powstawanie przeciwciał dla obu tych schorzeń.
5. Ze względu trwały charakter obecności przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit oraz znaną ich wartość predykcyjną, chorzy z cukrzycą typu 1 wymagają wieloletniej obserwacji klinicznej w kierunku występowania nieswoistych zapaleń jelit.

10. Streszczenie

Cukrzyca typu 1 jest jedną z najczęstszych chorób przewlekłych występujących u dzieci i młodzieży. Często współwystępuje z innymi schorzeniami o podłożu autoimmunizacyjnym, takimi jak choroba Hashimoto, autoimmunizacyjne zapalenie wątroby oraz choroba trzewna. Dane z piśmiennictwa wskazują na potencjalne ryzyko występowania nieswoistych zapaleń jelit u chorych z cukrzycą a wartość predykcyjna obecności przeciwciał stwarza możliwość wczesnej identyfikacji pacjentów zagrożonych rozwojem tych schorzeń. Celem pracy była ocena rodzaju i częstości występowania przeciwciał charakterystycznych dla autoimmunizacyjnych schorzeń jelit tj. choroby Leśniowskiego i Crohna, wrzodziejącego zapalenia jelita grubego oraz choroby trzewnej u dzieci z cukrzycą typu 1 oraz określenie ich znaczenia klinicznego. W tym celu w grupie 100 chorych z cukrzycą (50 chłopców, 50 dziewcząt) losowo wybranych spośród 600 pacjentów pozostających w stałej opiece referencyjnego ośrodka diabetologii dziecięcej, przeprowadzono wywiad, badanie fizykalne, wykonano badania auksologiczne, laboratoryjne oraz oznaczono dwukrotnie, w odstępie 6 miesięcy, obecność przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit (ANCA, PAb, GAb, ASCA) oraz choroby trzewnej (EmA) (badanie I oraz II). Analizę przeprowadzono w zależności od czasu trwania cukrzycy w 3 grupach pacjentów: grupa I, dzieci z krótkim przebiegiem cukrzycy typu 1 (do 2 lat); grupa II, dzieci z przebiegiem choroby od 2 do 6 lat; grupa III, pacjenci z długoletnim przebiegiem cukrzycy typu 1 (powyżej 6 lat). Obecność przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit stwierdzono u 24% chorych z cukrzycą typu 1 w badaniu I oraz II. Niski odsetek przeciwciał charakterystycznych dla IBD stwierdzono w grupie II, natomiast wysoki w grupie I oraz III. Powyższe dane wskazują na brak zależności pomiędzy czasem trwania cukrzycy, a występowaniem przeciwciał charakterystycznych dla IBD. U większości chorych z cukrzycą i obecnymi przeciwciałami charakterystycznymi dla nieswoistych zapaleń jelit nie obserwowano objawów klinicznych ze strony przewodu pokarmowego. Stwierdzono natomiast, istotne statystycznie różnice w wartości liczby leukocytów, wskaźnika MCV oraz odsetka HbA1c w grupach I oraz III, w porównaniu do grupy II. Może to sugerować występowanie przewlekłego stanu zapalnego oraz zaburzeń wchłaniania w tej grupie chorych, a także wskazywać na związek występowania tych przeciwciał z wyrównaniem metabolicznym

cukrzycy. Występowanie choroby trzewnej stwierdzono u 13 chorych z cukrzycą: u 8 chorobę trzewną rozpoznano przed rozpoczęciem badania, natomiast u 5 pacjentów rozpoznano chorobę trzewną w trakcie trwania badania. Występowanie przeciwciał EmA, będących konsekwencją nieprzestrzegania diety bezglutenowej stwierdzono u 4 spośród 8 chorych z chorobą trzewną, u 4 pacjentów wykazano obecność przeciwciał EmA po raz pierwszy (nowe zachorowania) (badanie I). Obecność przeciwciał EmA w badaniu II stwierdzono u 5 spośród 12 pacjentów z rozpoznaną chorobą trzewną, dodatkowo u 1 badanego wykazano obecność EmA po raz pierwszy (nowe zachorowanie). Ponadto u 7 pacjentów z chorobą trzewną, i obecnymi przeciwciałami EmA, wykazano występowanie przeciwciał ASCA. Może to świadczyć o wpływie utrzymujących się zmian zapalnych w obrębie przewodu pokarmowego na powstawanie przeciwciał dla obu tych schorzeń. W grupie 13 chorych z cukrzycą i chorobą trzewną obecność objawów klinicznych ze strony przewodu pokarmowego stwierdzono u 4 badanych, w tym u 2 pacjentów z nowo rozpoznaną chorobą trzewną, przed wprowadzeniem diety bezglutenowej. Potwierdza to skąpoobjawy lub bezobjawowy przebieg choroby trzewnej u większości pacjentów z cukrzycą, a także istotną rolę badań przesiewowych w diagnostyce tego schorzenia. W odniesieniu do badań laboratoryjnych w grupie chorych z współistniejącą cukrzycą i chorobą trzewną wykazano wyższe wartości liczby leukocytów, w porównaniu do grupy pacjentów z cukrzycą. Nie wykazano natomiast różnic pomiędzy parametrami auksologicznymi, dobowym zapotrzebowaniem na insulinę oraz pozostałymi parametrami laboratoryjnymi.

Ze względu trwały charakter obecności przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit oraz znaną ich wartość predykcyjną, chorzy z cukrzycą typu 1 obciążeni ryzykiem rozwoju choroby Leśniowskiego i Crohna, wymagają wieloletniej obserwacji oraz monitorowania. Wyselekcjonowanie grupy pacjentów z cukrzycą i obecnymi przeciwciałami charakterystycznymi dla nieswoistych zapaleń jelit pozwala na uzyskanie dalszych informacji o czasie trwania okresu bezobjawowego oraz ewentualnego określenia częstości występowania choroby Leśniowskiego i Crohna w grupie chorych z cukrzycą typu 1.

Słowa kluczowe: cukrzyca typu 1, dzieci i młodzież, nieswoiste zapalenia jelit, choroba trzewna, autoimmunizacja

11. Abstract

Type 1 diabetes is one of the most common chronic diseases occurring in children and adolescents. Often associated with other autoimmune diseases, such as Hashimoto's disease, autoimmune hepatitis and celiac disease. Data from the literature indicate a potential risk of occurrence of inflammatory bowel disease in patients with diabetes, and the predictive value of antibody offers the possibility of early identification of patients at risk of developing these diseases. The aim of this study was to evaluate the type and incidence of antibodies specific to autoimmune diseases, such as Crohn's disease, ulcerative colitis and celiac disease in children with type 1 diabetes and to determine their clinical relevance. To this effect, the group of 100 diabetic patients (50 boys, 50 girls) randomly selected from among the 600 patients, who had been followed-up in a tertiary center for pediatric diabetes, interview, physical examination, aukological examination, laboratory tests performed and assayed antibodies specific to inflammatory bowel disease (ANCA, PAb, GAB, ASCA) and celiac disease (EmA) (study I and II). The analysis was performed according to the duration of diabetes in three groups: group I, children with a short course of type 1 diabetes (up to 2 years), group II, children in the course of the disease from 2 to 6 years, group III, patients the long-term course of type 1 diabetes (over 6 years). The presence of antibodies specific to inflammatory bowel disease was found in 25% of patients with type 1 diabetes. The lowest percentage of antibody specific for IBD was found in group II, while high in groups I and III. In most cases, the presence of antibodies were specific to the Crohn's disease. Confirmation of the presence of antibodies in the same patients over six months may indicate the ongoing autoimmune process in the gastrointestinal tract. Most patients with diabetes and the presence of antibodies specific to IBD, there was no clinical symptoms of the gastrointestinal tract. In analyzing the results of laboratory tests, statistically significant differences were observed in the values of leukocytes, MCV ratio and HbA1c in groups I and III compared to group II. The study included 13 patients with diabetes and celiac disease. In 8 patients diagnosed with celiac disease before the study, whereas 5 patients with acute onset type 1 diabetes diagnosed celiac disease during the study. The presence of antibodies EmA are the consequence of failure to gluten-free diet were observed in 4 out of 8 patients with celiac disease, 4 patients showed the presence of antibodies EmA for the first time

(new onset). EmA antibodies in study II was found in 5 out of 12 patients diagnosed with celiac disease, in addition, a test revealed the presence of EmA for the first time (new onset). In addition, 7 patients with celiac disease and occurrence of antibodies to EmA, showed the presence of antibodies ASCA. It's may be the effect of persistent inflammation within the intestine resulting from lack or improper diet in the induction of antibodies for both these diseases. In the group of 13 patients with diabetes and celiac disease the presence of clinical symptoms was found in 4 cases, including 2 patients with newly diagnosed celiac disease, before the introduction of gluten-free diet. In analyzing the results of laboratory tests in patients with celiac disease showed significantly higher levels of leukocytes. There were no differences between the auktological parameters, total insulin requirement and other laboratory parameters in patients with diabetes and celiac disease as compared to the other group of patients with diabetes.

Demonstrated the presence of antibodies specific to IBD is an indication for long-term observation and monitoring of patients at risk of developing Crohn's disease. Selection of patients with diabetes and presence of antibodies specific to IBD allows for observation and to obtain further information about the time period and the possible determination of subclinical disease incidence Crohn's disease in patients with type 1 diabetes.

Key words: type 1 diabetes, children and adolescents, inflammatory bowel disease, celiac disease, autoimmunity

12. Piśmiennictwo

1. Aaltonen J., Bjorses P., Sandkuijl L., Perheentupa J., Peltonen L.: *An autosomal locus causing autoimmune disease: autoimmune polyglandular disease type I assigned to chromosome 21*. Nature Genet., 1994, 8: 83-87.
2. Akira S., Takeda K.: *Toll-like receptor signaling*. Nat. Rev. Immunol., 2004, 4: 499-511.
3. American Diabetes Association. *Clinical practice recommendations*. Diabetes Care 2009, 32: supl. C.
4. A. Szaflarska-Popławska, Karczewska K., Żabka A., Łoś-Rycharska E., Czerwionka-Szaflarska M., Albrecht P., Brendze J., Burda-Muszyńska B., Cukrowska B., Czaja-Bulsa G., Daukszewicz A., Gawrońska A., Hapyn E., Iwańczak B., Iwańczak F., Jakubik M., Jarocka-Cyrta E., Józefczuk J., Kazimierczak B., Kochańska E., Konieczny P., Korczowski B., Mokrzycka M., Mroczkowska-Juchkiewicz A., Oralewska B., Radzikowski A., Reyman W., Sienkiewicz E., Skóra K., Szymanowicz J., Szymańska A., Ślimok M., Woś H., Zalewska A., Zauska J.: *Występowanie celiakii w Polsce-badanie wieloośrodkowe*. Pediatr. Współcz., 2009, 11: 111-116.
5. Ardesjö B., Portela-Gomes G.M., Rorsman F., Gerdin E., Löf L., Grimelius L., Kämpe O., Ekwall O.: *Immunoreactivity against goblet cells in patients with inflammatory bowel disease*. Inflamm. Bowel Dis., 2008, 14: 652-661.
6. Atkinson M.A., Eisenbarth G.S.: *Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment*. Lancet, 2001, 358: 221-229.
7. Baecher-Allan C., Viglietta V., Hafler D.A.: *Human CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells*. Semin. Immunol., 2004, 16: 89-98.
8. Bansil S.D., Chapman R.W., Fleming K.A.: *Prevalence and diagnostic role of antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease*. Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., 1996, 8: 881-885.
9. Bardella M.T., Trovato C., Cesana B.M., Pagliari C., Gebbia C., Peracchi M.: *Serological markers for coeliac disease: is it time to change?* Dig. Liver Dis., 2001, 33: 426-431.
10. Barera G., Bonfanti R., Viscardi M., Bazzigaluppi E., Calori G., Meschi F., Bianchi C., Chiumello G.: *Occurrence of celiac disease after onset of type 1*

- diabetes: a 6-year prospective longitudinal study.* Pediatrics, 2002, 109: 833-838.
11. Barrett J.C., Hansoul S., Nicolae D.L., Cho J.H., Duerr R.H., Rioux J.D., Brant S.R., Silverberg M.S., Taylor K.D., Barmada M.M et al.: *Genome-wide association defines more than thirty distinct susceptibility loci for Crohn's disease.* Nat. Genet., 2008, 40: 955-962.
 12. Basta Z., Csi I., Szabo G., Szegedi G.: *Seroreactivity against Saccharomyces cerevisiae in patients with Crohn's disease and celiac disease.* World Gastroenterol., 2003, 9: 2308-2312.
 13. Binder V.: *Epidemiology of IBD during the twentieth century: an integrated view,* Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol., 2004, 18: 463-479.
 14. Bingley P.J., Williams A.J., Gale E.A.: *Optimized autoantibodies-based risk assessment in family members. Implications for future intervention trials.* Diabetes, 1999, 22: 1796-1801.
 15. Bingley P.J., Williams A.J.K., Norcross A.J., Unsworth D.J., Lock R.J., Ness A.R., Jones R.W.: *Undiagnosed coeliac disease at age seven: population based prospective birth cohort study.* BMJ, 2004, 328: 322-323.
 16. Bizzaro N.: *Autoantibodies as predictors of disease: the clinical and experimental evidence.* Autoimmun. Rev., 2007, 6: 325-333.
 17. Bizzaro N.: *The predictive significance of autoantibodies in Organ-Specific autoimmune diseases.* Clinic. Rev. Allerg. Immunol., 2008, 34: 326-331.
 18. Bottini N., Musumeci L., Alonso A., Rahmouni S., Nika K., Rostamkhani M., MacMurray J., Meloni G.F., Lucarelli P., Pellecchia M., Eisenbarth G.S., Comings D., Mustelin T.: *A functional variant of lymphoid tyrosine phosphatase is associated with type 1 diabetes.* Nature Genet., 2004, 36: 337-338.
 19. Buyse I., Sandkuyl L.A., Zamani Ghabanbasani M., Gu X.X., Bouillon R., Bex M., Dooms L., Emonds M.P., Duhamel M., Marynen P.: *Association of particular HLA class II alleles, haplotypes and genotypes with susceptibility to IDDM in the Belgian population.* Diabetologia. 1994, 37: 808-817.
 20. Cerf-Bensussan N., Cellier C., Heyman M., Brousse N., Schmitz J.: *Coeliac disease: an update on facts and questions based on the 10th International Symposium on Coeliac Disease.* J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2003, 37: 412-421.

21. Cerutti F., Bruno G., Chiarelli F., Lorini R., Meschi F., Sacchetti C.: *Younger age at onset and sex predict celiac disease in children and adolescents with type 1 diabetes. An Italian multicenter study.* Diab. Care, 2004, 27: 1294-1298.
22. Cerutti F., Bruno G., Sacchetti C.: *Risk for silent celiac disease is higher in diabetic children with a diabetic sibling than in sporadic case.* Diab. Care, 2000, 23: 1027-1028.
23. Chapel H., Haeney M., Misbah S., Snowden N., Senatorski G., (red. Wyd. Pol.): *Immunologia kliniczna.* Czelej, wydanie I, 2009.
24. Chevalier R., Esnault J., Vandewalle. P., Sendid. B., Colombel J.F., Poulain D., Malletta J.M.: *Synthetic yeast oligomannosides as biological probes: α -D-Manp (1 $\rightarrow$ 3) α -D-Manp (1 $\rightarrow$ 2) α -D-Manp and α -D-Manp (1 $\rightarrow$ 3) α -D-Manp (1 $\rightarrow$ 2) α -D-Manp (1 $\rightarrow$ 2) α -D-Manp as Crohn's disease markers.* Tetrahedron, 2005, 61: 7669-7677.
25. Chorzelski T.P., Sulej J., Tchorzewska H., Jablonska S., Beutner E.H., Kumar V.: *IgA class endomysium antibodies in dermatitis herpetiformis and coeliac disease.* Ann. N. Y. Acad. Sci., 1983, 420: 325-334.
26. Ciechanowska M., Dziatkowiak H., Nazim J., Szybiński Z., Starzyk J.: *The incidence of childhood type 1 diabetes in the Cracow region during 1987-2003.* Diabetologia, 2005, 48, Suppl. 1: A104.
27. Ciechanowska M.: *Epidemiologia cukrzycy typu 1 wśród dzieci poniżej 15 roku życia w latach 1987-2005 zamieszkałych w regionie krakowskim (dane niepublikowane).*
28. Cohen R., Robinson D Jr, Paramore C., Fraeman K., Renahan K., Bala M.: *Autoimmune disease concomitance among inflammatory bowel disease patients in the United States, 2001-2002.* Inflamm. Bowel Dis., 2001, 4: 738-743.
29. Crone J., Rami B., Huber W.D , Granditsch G., Schober E.: *Prevalence of celiac disease and follow-up of EMA in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus,* J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 2003, 37: 67-71.
30. Dądałski M., Kierkuś J., Szczepański M., Schmidt H., Buning C., Szymańska S., Ryżko J., Socha P.: *Częstość mutacji genu NOD2/CARD15 u dzieci z nieswoistym zapaleniem jelit i jej związek z obrazem klinicznym choroby Crohna.* Stand. Med., 2009, 1: 103-107.
31. Davidson A., Diamond B.: *Autoimmune diseases.* N. Engl. J. Med., 2001, 345: 340-350.

32. de Mesquita M.B., Civitelli F., Levine A.: *Epidemiology, genes and inflammatory bowel diseases in childhood*. Dig. Liver Dis., 2008, 4: 3-11.
33. Dembińska-Kieć A., Naskalski J.: *Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej*. Urban & Partner, wydanie II, 2002,
34. Dieterich W., Ehnis T., Bauer M., Donner P., Volta U., Riecken EO., Schuppan D.: *Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease*. Nat. Med., 1997, 3: 797-801.
35. Dieterich W., Lang E., Schopper H.: *Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease*. Gastroenterology, 1998, 115: 1317-1321.
36. D'Incà R., Annese V., di Leo V., Latiano A., Quaino V., Abazia C., Vettorato M.G., Sturniolo G.C.: *Increased intestinal permeability and NOD2 variants in familial and sporadic Crohn's disease*. Aliment Pharmacol. Ther., 2006, 15: 1455-1461.
37. Doolan A., Donaghue K., Fairchild J., Wong M., Williams A.J.: *Use of HLA typing in diagnosing celiac disease in patients with type 1 diabetes*. Diabetes Care, 2005, 28: 806-809.
38. Drago S, El Asmar R., Di Pierro M., Grazia Clemente M., Tripathi A., Sapone A., Thakar M., Iacono G., Carroccio A., D'Agate C., Not T., Zampini L., Catassi C., Fasano A.: *Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines*. Scand. J. Gastroenterol., 2006, 41: 408-419.
39. Dubinsky M.: *Clinical utility of serodiagnostic testing in suspected pediatric inflammatory bowel disease*. Am. J Gastroenterol., 2001, 46: 758-765.
40. Fasano A., Araya M., Bhatnagar S.: *Federation of International Societies of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, Nutrition Consensus Report on Celiac Disease*. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 2008, 47: 214-219.
41. Fasano A., Berti I, Gerarduzzi T., Not T., Colletti R.B., Drago S., Elitsur Y., Green P.H., Guandalini S., Hill I.D., Pietzak M., Ventura A., Thorpe M., Kryszak D., Fornaroli F., Wasserman S., Murray J.A, Horvath K.: *Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study*. Arch. Intern. Med., 2003, 163: 286-292.
42. Fasano A., Shea-Donohue T.: *Mechanisms of Disease: The role of intestinal barrier function in the pathogenesis of gastrointestinal autoimmune diseases*. Gastroenterol. Hepatol., 2005, 2: 416-422.

43. Freeman H., Roeck B., Devine D., Carter C.: *Prospective evaluation of neutrophil autoantibodies in 500 consecutive patients with inflammatory bowel disease*. Can. J. Gastroenterol., 1997, 11: 203-207.
44. Freemark M., Levitsky L.L.: *Screening for celiac disease in children with type 1 diabetes*. Diab. Care, 2003, 26: 1932-1939.
45. Freisleben de Blasio B., Bak P., Pociot F., Karlsen A.E., Nerup J.: *Onset of type 1 diabetes. A dynamical instability*. Diabetes, 1999, 48: 1677-1685.
46. Glas J., Stallhofer J., Ripke S., Wetzke M., Pfennig S., Klein W., Epplen J.T., Griga T., Schiemann U., Lacher M., Koletzko S., Folwaczny M., Lohse P., Göke B., Ochsenkühn T., Müller-Myhsok B., Brand S.: *Novel genetic risk markers for ulcerative colitis in the IL2/IL21 region are in epistasis with IL23R and suggest a common genetic background for ulcerative colitis and celiac disease*. Am. J. Gastroenterol., 2009, 104: 1737-1744.
47. Goischke E.M., Zilly W.: *Clinical importance of organ-specific autoantibodies in ulcerative colitis and Crohn's disease*. Gastroenterol., 1992, 30: 319 - 324.
48. Green A., Patterson C.C., EURODIAB TIGER Study Group: *Trends in the incidence of childhood-onset diabetes in Europe 1989-1993*. Diabetologia 44: B3-B8.
49. Green P.H.R., Cellier C.: *Celiac disease*. N. Engl. J. Med., 2007, 357: 1731-1743.
50. Grzenda-Adamek Z., Ciechanowska M., Nazim J., Górka A., Fyderek K., Starzyk J.: *Prevalence of Celiac Disease in Children and Adolescents With Type I Diabetes Mellitus in Southern Poland*, J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 2005, 40, 636-637.
51. Grzybowska-Chlebowczyk U., Woś H., Więcek S., Kajor M., Szymańska M., Staszewska-Kwak A., Piątkowska M., Gołka D.: *Współczesny obraz kliniczny celiakii u dzieci*. Pol. Merk. Lek., 2005, 18: 49-53.
52. Hampe J., Cuthbert A., Croucher P.J., Mirza M.M., Mascheretti S., Fisher S., Frenzel H., King K., Hasselmeier A., MacPherson A.J., Bridger S., van Deventer S., Forbes A., Nikolaus S., Lennard-Jones J.E., Foelsch U.R., Krawczak M., Lewis C., Schreiber S., Mathew C.G.: *Association between insertion mutation in NOD2 gene and Crohn's disease in German and British populations*. Lancet, 2001, 357: 1925-1928.

53. Harrer M., Reinisch W., Dejaco C., Kratzer V., Gmeiner M., Miehsler W., Norman G.L., Gangl A., Vogelsang H.: *Do high serum levels of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies result from a leakiness of the gut barrier in Crohn's disease?* Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., 2003, 15: 1281-1285.
54. Heiner D.C., Lahey M.E., Wilson J.F., Gerrard J.W., Schwachmann H., Khaw K.T.: *Precipitins to antigens of wheat and cow's milk in coeliac disease.* J. Paediatr., 1962, 61: 813-830.
55. Hermann R., Knip M., Veijola R., Simell O., Laine A.P., Akerblom H.K., Groop P.H., Forsblom C., Pettersson-Fernholm K., Ilonen J. FinnDiane Study Group: *Temporal changes in the frequencies of HLA genotypes in patients with type 1 diabetes-indication of an increased environmental pressure?* Diabetologia, 2003, 46: 420-425.
56. Hill I.D., Dirks M.H., Liptak G.S., Colletti R.B., Fasano A., Guandalini S., Hoffenberg E.J., Horvath K., Murray J.A., Pivor M., Seidman E.G.: *Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition.* J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 2005, 40: 1-19.
57. Hollander D.: *Intestinal permeability, leaky gut, and intestinal disorders.* Curr. Gastroenterol. Rep., 1999, 5: 410-416.
58. Hori S., Nomura T., Sakaguchi S.: *Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3.* Science, 2003, 299: 1057-1061.
59. Hunt K.A., Zhernakova A., Turner G., Heap G.A., Franke L., Bruinenberg M.: *Newly identified genetic risk variants for celiac disease related to the immune response.* Nat. Genet., 2008, 40: 395-402.
60. Iafusco D., Rea F., Prisco F.: *Hypoglikemia and reduction of the insulin requirement as a sign of coeliac disease in children with IDDM.* Diab. Care, 2008, 21: 1379-1380.
61. IDF: *Estimates of type 1 diabetes in children. European Region* (<http://www.eatlas.idf.org/>).
62. *Inflammatory bowel disease in children and adolescents: recommendations for diagnosis-the Porto criteria.* IBD Working Group of the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 2005, 41: 1-7.

63. Israeli E., Grotto I., Gilburd B., Balicer R.D., Goldin E., Wiik A., Shoenfeld Y.: *Anti-Saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic antibodies as predictors of inflammatory bowel disease*. Gut, 2005, 54: 1232-1236.
64. Iwańczak F.: *Gastroenterologia dziecięca-wybrane zagadnienia*. Borgis Wydawnictwo Medyczne, wydanie I, 2003.
65. Jaeger C., Hatzigelaki E., Petzoldt R. Bretzel R.G.: *Comparative Analysis of Organ-Specific Autoantibodies and Celiac Disease-Associated Antibodies in Type 1 Diabetic Patients, Their First-Degree Relatives, and Healthy Control Subjects*. Diabetes Care, 2001, 24: 27-32.
66. Jakóbisiak M.: *Immunologia*. PWN, wydanie IV, 2005.
67. Jarosz – Chobot P., Deja G., Polańska J.: *Epidemiology of type 1 diabetes among Silesian children aged 0 -14,1989-2005*. Acta Diabetol., 2009, 3: 292 - 594.
68. Jarosz-Chobot P., Polanska J., Szadkowska A.: *The dynamics changes of incidence of type 1 diabetes in Polish children, 1983-2025: where are we? A multicentre prospective registration study*. Diabetologia, 2009, 52: 118.
69. Jedynak-Wąsowicz U., Fyderek K., Kowalska-Duplaga K., Gruszka M., Przybyszewska K., Śladek M., Wędrychowicz A.: *Profil autooprzeciwciał narządowych w nieswoistych zapaleniach jelit u dzieci*. Pediatr. Współcz., 2004, 6: 3273-3277.
70. Jedynak-Wasowicz U., Kowalska-Duplaga K., Wedrychowicz A., Przybyszewska K., Śladek M., Pieczarkowski S., Fyderek K.: *Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies and clinical picture of Crohn's disease in children and adolescents*. J. Pediatr. Gastroenterol., 2006, 43: 2S45.
71. Jedynak-Wasowicz U., Wedrychowicz A., Przybyszewska K., Fyderek K., Pieczarkowski S., Śladek M., Al-Mutari I., Gula Z.: *Epidemiology of ulcerative colitis in children in Southern Poland: retrospective study 1992-2002*. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 2004, 39: S302.
72. Judy H.Ch.: *Advances in the genetics of inflammatory bowel disease*. Curr. Gastroenterol. Rep., 2004, 6: 467 - 473.
73. Kalicka-Kasperczyk A., Dziatkowiak H., Nazim J., Pituch-Noworolska A., Kasperczyk K., Bartnik-Mikuta A., Sztefko K., Starzyk J.: *Thyroid peroxidase antibodies and thyroid diseases in children and adolescent with type 1 diabetes mellitus from Southeast Poland*. Przegl. Lek., 2003, 60: 403-406.

74. Kamradt T., Mitchison N.A.: *Tolerance and autoimmunity*. N. Engl. J. Med., 2001, 344: 655-664.
75. Karges B., Muche R., Knerr I. i wsp.: *Levothyroxine in euthyroid autoimmune thyroiditis and type 1 diabetes: a randomized, controlled trial*. J. Clin. Endocrinol. Metab., 2007, 92: 1647-1652.
76. Karolewska-Bochenek K., Lazowska-Przeorek I., Albrecht P., Grzybowska K., Ryżko J., Szamotulska K., Radzikowski K., Landowski P., Krzesiek E., Ignys I., Fyderek K., Czerwionka-Szaflarska M., Jarocka-Cyrta E.: *Epidemiology of Inflammatory Bowel Disease among Children in Poland*. Digestion, 2009, 79: 121-129.
77. Khalil I., Deschamps I., Lepage V., al-Daccak R., Degos L., Hors J.: *Dose effect of cis- and trans-encoded HLA-DQ alpha beta heterodimers in IDDM susceptibility*. Diabetes, 1992, 41: 378 -384.
78. Kimpimäki T., Kulmala P., Savola K., Kupila A., Korhonen S., Simell T., Ilonen J., Simell O., Knip M.: *Natural history of beta-cell autoimmunity in young children with increased genetic susceptibility to type 1 diabetes recruited from the general population*. J. Clin. Endocrinol. Metab., 2002, 87: 4572-4579.
79. Klineciewicz B., Ignys I., Cichy W.: *Coexistens of coeliac disease and inflammatory bowel disease in children*. Gastroenterol. Pol., 2007, 9: 23-25.
80. Knip M., Veijola R., Virtanen S.M., Hyöty H., Vaarala O., Akerblom H.K.: *Environmental triggers and determinants of type 1 diabetes*. Diabetes, 2005, 54:125-S136.
81. Kordonouri O., Deiss D., Danne T., Dorow A., Bassir C., Grüters-Kieslich A.: *Predictivity of thyroid autoantibodies for the development of thyroid disorders in children and adolescents with Type 1 diabetes*. Diabet. Med., 2002, 19: 518-21.
82. Kordonouri O., Hartmann R., Riebel T., Liesenkoetter K.P.: *Early treatment with L-thyroxine in children and adolescents with type 1 diabetes, positive thyroid antibodies, and thyroid gland enlargement*. Pediatr. Diabetes, 2007, 8: 180-184.
83. Korman E., Smorawińska A., Pankowska-Maciak U.: *Czynność hormonalna tarczycy u dzieci chorych na cukrzycę insulinozależną*. Ped. Pol., 1990, 65: 28.

84. Korpala-Szczyrska M., Dorant B., Birkholz D., Kamińska H., Myśliwiec M.: *Przeciwciała przeciwwartycowe u dzieci ze świeżo rozpoznaną cukrzycą typu 1*. Endokrynol. Diabetol. Chor. Przem. Materii Wieku Rozwoj., 2002, 8, 73.
85. Krętowski A., Kinalska I.: *Ocena wybranych alleli HLA DRB1 jako genetycznych markerów cukrzycy insulinozależnej w populacji regionu Północno-Wschodniej Polski*. Pol. Merk. Lek., 1999, 7: 208-209.
86. Krokowski M., Bodalski J., Bratek A., Boitard C., Caillat-Zucman S.: *HLA class II-associated predisposition to insulin dependent diabetes mellitus in a Polish population*. Hum. Immunol., 1998, 59: 451-455.
87. Lahita R.G.: *Textbook of the autoimmune disease*. Lippincott Williams & Wilkins, 1st edition, 2000.
88. Lawrance I.C., Hall A., Leong R., Pearce C., Murray K.: *A comparative study of goblet cell and pancreatic exocrine autoantibodies combined with ASCA and pANCA in Chinese and Caucasian patients with IBD*. Inflamm. Bowel Dis., 2005, 11: 890-897.
89. Leeds J.S., Höroldt B.S., Sidhu R., Hopper A.D., Robinson K., Toulson B., Dixon L., Lobo A.J., McAlindon M.E., Hurlstone D.P., Sanders D.S.: *Is there an association between coeliac disease and inflammatory bowel diseases? A study of relative prevalence in comparison with population controls*. Scand. J. Gastroenterol., 2007, 42: 1214-1220.
90. Lesage S., Zouali H., Cezard J.P., Colombel J.F., Belaiche J., Almer S., Tysk C., O'Morain C., Gassull M., Binder V., Finkel Y., Modigliani R., Gower-Rousseau C., Macry J., Merlin F., Chamaillard M., Jannot A.S., Thomas G., Hugot J.P.: *CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease*. Am. J. Hum. Genet., 2002, 70: 845-857.
91. Leslie R.D., Atkinson M.A., Notkins A.L.: *Autoantigens IA-2 and GAD in Type I (insulin-dependent) diabetes*. Diabetologia, 1999, 42: 3-14.
92. Lettre G., Rioux J.D.: *Autoimmune diseases: insights from genome-wide association studies*. Hum. Mol. Genet., 2008, 15: 116-121.
93. Lorini R., Scaramuzza A., Vitali L., d'Annunzio G., Avanzini M.A., De Giacomo C., Severi F.: *Clinical aspects of coeliac disease in children with insulin-dependent diabetes mellitus*. J. Pediatr. Endocrinol. Metab., 1996, 9: 101-111.

94. Maiti A.K., Kim-Howard X., Viswanathan P., Guillén L., Rojas-Villarraga A., Deshmukh H., Direskeneli H., Saruhan-Direskeneli G., Canas C., Tobön G.J., Sawalha A.H., Chernavsky A.C., Anaya J.M., Nath S.K.: *Confirmation of an association between rs6822844 at the Il2-Il21 region and multiple autoimmune diseases: evidence of a general susceptibility locus*. Arthritis Rheum., 2010, 62: 323-329.
95. Mäki M., Mustalahti K., Kokkonen J., Kulmala P., Haapalahti M., Karttunen T., Ilonen J., Laurila K., Dahlbom I., Hansson T., Höpfl P., Knip M.: *Prevalence of celiac disease among children in Finland*. N. Engl. J. Med., 2003, 348: 2517-2524.
96. Malaty H.M., Fan X., Opekun A.R., Thibodeaux C., Ferry G.D.: *Rising incidence of inflammatory bowel disease among children: a 12-year study*. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 2010, 50: 27-31.
97. Márquez A., Orozco G., Martínez A., Palomino-Morales R., Fernández-Arquero M., Mendoza J.L., Taxonera C., Díaz-Rubio M., Gómez-García M., Nieto A., López-Nevot M.A., de la Concha E.G., Martín J., Urcelay E.: *Novel association of the interleukin 2-interleukin 21 region with inflammatory bowel disease*. Am. J. Gastroenterol., 2009, 104: 1968-1975.
98. Marsh M.N.: *Gluten, major histocompatibility complex and the small intestine*. Gastroenterology, 1992, 102: 330-354.
99. Marshall W.A., Tanner J.M.: *Variations in the pattern of pubertal changes in girls*. Arch. Dis. Child., 1969, 44: 291-303.
100. Marshall W.A., Tanner J.M.: *Variations in the pattern of pubertal changes in boys*. Arch. Dis. Child., 1970, 45: 13-23.
101. Marson A., Kretschmer K., Frampton G.M.: *Foxp3 occupancy and regulation of key target genes during T-cell stimulation*. Nature, 2007, 445: 931-935.
102. Martin D.A., Zheng L., Siegel R.M., Huang B., Fisher G.H., Wang J., Jackson C.E., Puck J.M., Dale J., Straus S.E., Peter M.E., Krammer P.H., Fesik S., Lenardo M.J.: *Defective CD95/APO-1/Fas signal complex formation in the human autoimmune lymphoproliferative syndrome, type Ia*. Proc. Nat. Acad. Sci., 1999, 96: 4552-4557.
103. Młynarski W.: *Podłoże genetyczne współwystępowania chorób autoimmunologicznych z cukrzycą typu 1*. Przegl. Ped., 2003: 33, 105-109.

104. Molberg O., Mcadam S.N., Körner R., Quarsten H., Kristiansen C., Madsen L., Fugger L., Scott H., Norén O., Roepstorff P., Lundin K.E., Sjöström H., Sollid L.M.: *Tissue transglutaminase selectively modifies gliadin peptides that are recognized by gut-derived T cells in celiac disease*. Nat. Med. 1998, 4: 713-717.
105. Nakamura R.: *Advances in clinical laboratory tests for inflammatory bowel disease*. Clin. Chimica Acta, 2003, 335: 9-20.
106. Neilsen H., Wiik A.: *Granulocyte specific antinuclear antibodies in ulcerative colitis*. Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand., 1983, 91: 23-26.
107. Not T., Tommasini A., Tonini G.: *Undiagnosed celiac disease and risk of autoimmune disorders in subjects with Type 1 diabetes mellitus*. Diabetologia, 2001, 44: 151 - 155.
108. O'Neill L.A.: *How NOD-ing off leads to Crohn disease*. Nat. Immunol., 2004, 5: 776-778.
109. Oberhuber G., Granditsch G., Vogelsang H.: *The histopathology of celiac disease: time for a standardized report scheme for pathologists*. Eur. J. Gastroenterol. Hepatol., 1999, 11: 1185-1194.
110. Ogura Y., Bonen D.K., Inohara N., Nicolae D.L., Chen F.F., Ramos R., Britton H., Moran T., Karaliuskas R., Duerr R.H., Achkar J.P., Brant S.R., Bayless T.M., Kirschner B.S., Hanauer S.B., Nunez G., Cho J.H.: *A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease*. Nature, 2001, 31: 603-606.
111. Otto-Buczkowska E.: *Celiakia u chorych na cukrzycę zależną od insuliny*. Przegl. Lekarski, 1998, 55: 346-348.
112. Palczewska I., Niedźwiecka Z.: *Wskaźniki rozwoju somatycznego dzieci i młodzieży*. Med. Wieku Rozw., 2001, 2: supl. 1.
113. Paul W.E.: *Fundamental Immunology*. Lippincott Williams & Wilkins, 4th edition, 2003.
114. Peeters M., Joossnes B., Vermiere S.: *Diagnostic value of anti-saccharomyces cerevisiae and antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease*. Am. J Gastroenterol., 2001, 42: 487-496.
115. Pena A.S.: *Genetics of Inflammatory Bowel Disease. The Candidate Gene Approach: Susceptibility versus Disease Heterogeneity*. Dig. Dis., 1998, 16: 356-363.

116. Piccirillo C.A., d'Hennezel E., Sgouroudis E., Yurchenko E.: *CD4+Foxp3+ regulatory T cells in the control of autoimmunity: in vivo veritas*. Curr. Opin. Immunol., 2008, 20: 655-662.
117. Pociot F, McDermott M F.: *Genetics of type 1 diabetes mellitus*. Genes Immun., 2002, 3: 235-249.
118. Ptak W., Ptak M.: *Podstawy immunologii*. WUJ, wydanie II, 2000.
119. Puszczewicz M.: *Przeciwciała przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych (ANCA)*. Reumatol., 2005, 43: 341-348.
120. Rabinovitch A., Suarez-Pinzon W.L.: *Roles of cytokines in the pathogenesis and therapy of type 1 diabetes*. Cell Biochem. Biophys., 2007, 48: 159-163.
121. Reese G.E., Constantinides V.A., Simillis C., Darzi A.W., Orchard T.R., Fazio V.W., Tekkis P.P.: *Diagnostic precision of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease*. Am. J. Gastroenterol., 2006, 101: 2410 -2422.
122. Rensch M.J., Merenich J.A., Liberman M.: *Gluten-Sensitive Enteropathy in Patients with Insulin-Dependent Diabetes Mellitus*. Annals of Internal Medicine, 1996, 124: 564-567.
123. Reumaux D., Sendid B., Poulain D., Duthilleul P., Dewit O., Colombel J.F.: *Serological markers in inflammatory bowel disease*. Clin. Gastroenterol., 2003, 17: 19-35.
124. Rodríguez-Bores L., Fonseca G.C., Villeda M.A., Yamamoto-Furusho J.K.: *Novel genetic markers in inflammatory bowel disease*. World J. Gastroenterol., 2007, 42: 5560-5570.
125. Roggenbuck D., Hausdorf G., Martinez-Gamboa L., Reinhold D., Büttner T., Jungblut P.R., Porstmann T., Laass M.W., Henker J., Büning C., Feist E., Conrad K.: *Identification of GP2, the major zymogen granule membrane glycoprotein, as the autoantigen of pancreatic antibodies in Crohn's disease*. Gut, 2009, 58: 1620-1628.
126. Sapone A., de Magistris L., Pietzak M., Clemente M.G., Tripathi A., Cucca F., Lampis R., Kryszak D., Carteni M., Generoso M., Iafusco D., Prisco F., Laghi F., Riegler G., Carratu R., Counts D., Fasano A.: *Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives*. Diabetes, 2006, 55: 1443 -1449.

127. Saxon A., Landers C.: *A distinct subset of antineutrophil cytoplasmic antibodies is associated with inflammatory bowel disease*. J. Allergy Clin. Immunol., 1990, 86: 202-210.
128. Seah P.P., Fry L., Rossiter M.A., Hoffbrand A.V., Holborow E.J.: *Anti-reticulin antibodies in childhood coeliac disease*. Lancet, 1971, 25: 681-682.
129. Sendid B., Colombel J.F., Jacquinet P.M., Faille C., Fruit J., Cortot A., Lucidarme D., Camus D., Poulain D.: *Specific antibody response to oligomannosidic epitopes in Crohn's disease*. Clin. Diag. Lab. Immunol., 1996, 3: 219-226.
130. Setty M., Hormaza L., Guandalini S.: *Celiac disease: risk assessment, diagnosis, and monitoring*. Mol. Diagn. Ther., 2008, 12: 289-298.
131. Shan L., Molberg O., Parrot I., Hausch F., Filiz F., Gray G., Sollid L., Khosla C.H.: *Structural Basis for Gluten Intolerance in Celiac Sprue*. Science, 2002, 297: 2275-2279.
132. Shanahan F., Duerr R.H., Rotter J.I., Yang H., Sutherland L.R., McElree C., Landers C.J., Targan S.R.: *Neutrophil autoantibodies in ulcerative colitis: familial aggregation and genetic heterogeneity*. Gastroenterol., 1992, 103: 707 - 711.
133. Shoenfeld Y., Blank M., Abu-Shakra M., Amital H., Barzilai O., Berkun Y., Bizzaro N., Gilburd B., Zandman-Goddard G., Katz U., Krause I., Langevitz P., Mackay I.R., Orbach H., Ram M., Sherer Y., Toubi E., Gershwin M.E.: *The mosaic of autoimmunity: prediction, autoantibodies, and therapy in autoimmune diseases*. Isr. Med. Assoc. J., 2008, 10: 13-19.
134. Simell S., Kupila A., Hoppu S., Hekkala A., Simell T., Stahlberg M.R., Viander M., Hurme T., Knip M., Ilonen J., Hyöty H., Simell O.: *Natural history of transglutaminase autoantibodies and mucosal changes in children carrying HLA-conferred celiac disease susceptibility*. Scand. J. Gastroenterol., 2005, 40: 1182-1191.
135. Socha J.: *Choroby autoimmunologiczne u dzieci*. PZWL, wydanie I, 2005.
136. Stöcker W., Otte M., Ulrich S., Normann D., Stöcker K., Jantschek G.: *Autoantibodies against the exocrine pancreas and against intestinal goblet cells in the diagnosis of Crohn's disease and ulcerative colitis*. Dtsch. Med. Wochensh., 1984, 109: 1963-1969.

137. Stoffel M.P., Csernock E., Herzberg C.: *Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against bactericidal/permeability increasing protein (BPI): a new seromarker for inflammatory bowel disease and associated disorders.* Clin. Exp. Immunol., 1996, 104: 54-59.
138. Szaflarska-Popławska A., Parzęcka M., Muller L., Placek W.: *Screening for celiac disease in Poland.* Med. Sci. Monit., 2009, 15: PH7-11.
139. Szebeni B., Veres G., Dezsofi A.1., Rusai K.1., Vannay A., Mraz M., Majorova E., Arato A.: *Increased expression of Toll-like receptor TLR2 and TLR4 in the colonic mucosa of children with inflammatory bowel disease.* Clin. Exp. Immunol., 2008, 151: 34-41.
140. Szybiński Z., Karnafel W., Kinalska I.: *Polskie badanie wieloośrodkowe zapadalności na cukrzycę typu 1 w grupach wiekowych 15-29 pomiędzy 1998 i 1999.* Pol. Arch. Med. Wewn., 2001, 106: 765-770.
141. *The Wellcome Trust Case Control Consortium: Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls.* Nature, 2007, 447: 661-678.
142. Thompson N.P., Driscoll R., Pounder R.E., Wakefield A.J.: *Genetics versus environment in inflammatory bowel disease: results of a British twin study.* BMJ, 1996, 312: 95-96.
143. Thorsby E.: *Invited anniversary review: HLA associated diseases.* Hum. Immunol., 1997, 53: 1-11.
144. Tommasini A., Not T., Kiren V., Baldas V., Santon D., Trevisiol C., Berti I., Neri E., Gerarduzzi T., Bruno I., Lenhardt A., Zamuner E., Spanò A., Crovella S., Martellosi S., Torre G., Sblattero D., Marzari R., Bradbury A., Tamburlini G., Ventura A.: *Mass screening for coeliac disease using antihuman transglutaminase antibody assay.* Arch. Dis. Child., 2004, 89: 512-515.
145. Trevisiol C., Ventura A., Baldas V., Tommasini A., Santon D., Martellosi S., Torre G., Berti I., Spanò A., Crovella S., Amoroso A., Sblattero D., Marzari R., Bradbury A., Not T.: *A reliable screening procedure for coeliac disease in clinical practice.* Scand. J. Gastroenterol., 2002, 37: 679-684.
146. Turkcapar N., Toruner M., Soykan I., Aydintug O.T., Cetinkaya H., Duzgun N., Ozden A., Duman M.: *The prevalence of extraintestinal manifestations and HLA association in patients with inflammatory bowel disease.* Rheumatol. Int., 2006, 26: 663-668.

147. Ueda H., Howson J.M., Esposito L.: *Association of T-cell regulatory gene CTLA-4 with susceptibility to autoimmune disease*. Nature, 2003, 423: 506-511.
148. Ueda H., Howson J.M.M., Esposito L., Heward J., Snook H., Chamberlain G., Rainbow D.B., Hunter K.M.D., Smith A.N., DiGenova G., Herr M.H., Dahlman I.: *Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease*. Nature, 2003, 423: 506-511.
149. Umpierrez G.E., Latif K.A., Murphy M.B., Lambeth H.C., Stentz F., Bush A., Kitabchi A.: *Thyroid dysfunction in patients with type 1 diabetes*. Diabetes Care, 2003, 26: 1181-1185.
150. Utech M., Brüwer M., Nusrat A.: *Tight junctions and cell-cell interactions*. Methods Mol. Biol., 2006, 341: 185-95.
151. Vafiadis P., Ounissi-Benkalha H., Palumbo M., Grabs R., Rousseau M., Goodyer C.G., Polychronakos C.: *Class III alleles of the variable number of tandem repeat insulin polymorphism associated with silencing of thymic insulin predispose to type 1 diabetes*. J. Clin. Endocrinol. Metab., 2001, 86: 3705-3710.
152. van Heel D.A., Franke L., Hunt K.A., Gwilliam R., Zhernakova A., Inouye M., Wapenaar M.C., Barnardo M.C., Bethel G., Holmes G.K., et al. *A genome-wide association study for celiac disease identifies risk variants in the region harboring IL2 and IL21*. Nat. Genet., 2007, 39: 827-829.
153. Vanderpump M.P., Turnbridge W.M., French J.M., Appleton D., Bates D., Clark F., Grimley Evans J., Hasan D.M., Rodgers H., Tunbridge F.: *The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Wickham Survey*. Clin Endocrinol., 1995, 43: 55-68.
154. Ventura A, Magazzù G, Greco L.: *Duration of exposure to gluten and risk for autoimmune disorders in patients with celiac disease*. SIGEP Study Group for Autoimmune Disorders in Celiac Disease. Gastroenterol., 1999, 117: 297-303.
155. Verge C.F., Gianani R., Kawasaki E., Yu L., Pietropaolo M., Jackson R.A., Chase H.P., Eisenbarth G.S.: *Prediction of type I diabetes in first-degree relatives using a combination of insulin, GAD, and ICA512bdc/IA-2 autoantibodies*. Diabetes, 1996, 45: 926-33.
156. Vermeire S., Joossens S., Peeters M., Monsuur F., Marien G., Bossuyt X., Groenen P., Vlietinck R., Rutgeerts P.: *Comparative study of ASCA (Anti-Saccharomyces cerevisiae antibody) assays in inflammatory bowel disease*. Gastroenterol., 2001, 120: 827-833.

157. Vilela E.G., de Abreu Ferrari Mde L., de Gama Torres H.O., Martins F.P., Goulart E.M., Lima A.S., da Cunha A.S.: *Intestinal permeability and antigliadin antibody test for monitoring adult patients with celiac disease*. Dig. Dis. Sci., 2007, 52: 1304-1309.
158. Vilela E.G., Torres H.O., Ferrari M.L., Lima A.S., Cunha A.S.: *Gut permeability to lactulose and mannitol differs in treated Crohn's disease and celiac disease patients and healthy subjects*. Braz. J. Med. Biol. Res., 2008, 41: 1105-1109.
159. von Boehmer H.: *Mechanisms of suppression by suppressor T cells*. Nature Immunology, 2005, 5: 338-344.
160. Watts D.A., Satsangi J.: *The genetic jigsaw of inflammatory bowel disease*. Gut, 2002, 50: 31-36.
161. Wedrychowicz A., Bik-Multanowski M., Jedynek-Wasowicz U., Kowalska-Duplaga K., Pieczarkowski S., Śladek M., Pietrzyk J., Fyderek K.: *NOD2/CARD15 mutations in children with inflammatory bowel diseases in south-eastern Poland*. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr., 2006, 42: E27-E28.
162. Wedrychowicz A., Bik-Multanowski M., Kowalska-Duplaga K., Jedynek-Wasowicz U., Pieczarkowski S., Śladek M., Przybyszewska K., Drabarek M., Pietrzyk J.J., Fyderek K.: *Mutacja Asp299Gly genu Toll-like receptor-4 u dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit w południowo-wschodniej Polsce*. Pediatr. Współcz., 2008, 10: 178-182.
163. Wenzlau J.M., Juhl K., Yu L., Moua O., Sarkar S.A., Gottlieb P., Rewers M., Eisenbarth G.S., Jensen J., Davidson H.W., Hutton J.C.: *The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes*. Proc. Natl. Acad. Sci., 2007, 23: 17040-17045.
164. Witas H.W., Młynarski W., Różalski M., Rujner J., Bodalski J., Socha J.: *Study of Polish coeliac patients: HLA-DQ amino acid variants involved in antigen presentation*. Centr. Eur. J. Immunol., 1997, 22: 266-271.
165. Yamamoto-Furusho, Y.K., Podolsky D.K.: *Innate immunity in inflammatory bowel disease*. World J. Gastroenterol., 2007, 13: 5577-5580.
166. *Zalecenia kliniczne dotyczące postępowania u chorych na cukrzycę 2009. Stanowisko Polskiego Towarzystwa Diabetologicznego*. Diab. Doświad. Klin., 2009, 9, supl. A.

167. Zawadzka P., Szczepański M., Łykowska-Szuber L., Samar H., Linke K., Żeromski J.: *The role of autoantibodies in diagnosing and identifying inflammator bowel diseases*. *Alergia Astma Immunol.*, 2006, 11: 155-161.
168. Zhernakova A., Alizadeh B.Z., Bevova M., van Leeuwen M.A., Coenen M.J., Franke B., Franke L., Posthumus M.D., van Heel D.A., van der Steege G., Radstake T.R., Barrera P., Roep B.O., Koeleman B.P., Wijmenga C.: *Novel association in chromosome 4q27 region with rheumatoid arthritis and confirmation of type 1 diabetes point to a general risk locus for autoimmune diseases*. *Am. J. Hum. Genet.*, 2007, 81: 1284-1288.
169. Ziegler A.G., Hummel M., Schenker M., Bonifacio E.: *Autoantibody appearance and risk for development of childhood diabetes in offspring of parents with type 1 diabetes. The 2-years analysis of the German BABYDIAB study*. *Diabetes*, 1999, 48: 460-468.
170. *Zmodyfikowany projekt standardów postępowania diagnostycznego i terapeutycznego w celiakii*. (<http://celiakia.ptghzd.pl>).

13. Spis tabel

Tabela 1. Ogólna charakterystyka badanych grup pacjentów z cukrzycą typu 1

Tabela 2. Rodzaj zastosowanych tkanek (komórek), lokalizacja autoantygenów oraz rozcieńczenie badanych surowic (metoda IIF)

Tabela 3. Czułość i swoistość oznaczeń przeciwciał w autoimmunizacyjnych schorzeniach jelit (metoda IIF)

Tabela 4. Częstość występowania oraz rodzaj przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit w grupie pacjentów z cukrzycą (badanie I) (n=100)

Tabela 5. Częstość występowania oraz rodzaj przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit w grupie pacjentów z cukrzycą (badanie II)

Tabela 6. Występowanie przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit w grupach I, II i III (badanie I)

Tabela 7. Występowanie przeciwciał charakterystycznych dla nieswoistych zapaleń jelit w grupach I, II i III (badanie II)

Tabela 8. Analiza grupy chorych z cukrzycą i obecnymi przeciwciałami charakterystycznymi dla nieswoistych zapaleń jelit oraz współistniejącymi objawami klinicznymi

Tabela 9. Analiza wybranych parametrów auksologicznych oraz zapotrzebowania na insulinę w badanych grupach I, II i III

Tabela 10. Charakterystyka badanych grup chorych z cukrzycą pod względem analizowanych parametrów laboratoryjnych

Tabela 11. Charakterystyka grupy porównawczej pod względem analizowanych parametrów laboratoryjnych

Tabela 12. Charakterystyka grupy chorych z cukrzycą i chorobą trzewną

Tabela 13. Analiza wybranych parametrów auksologicznych oraz zapotrzebowania na insulinę w badanych grupach chorych z cukrzycą i chorobą trzewną oraz pozostałej grupie chorych z cukrzycą

Tabela 14. Charakterystyka grupy chorych z cukrzycą i współistniejącą chorobą trzewną oraz pozostałej grupy chorych z cukrzycą pod względem analizowanych parametrów laboratoryjnych

14. Spis rycin

Rycina 1. Liczba pacjentów z cukrzycą typu 1 w poszczególnych grupach badanych w zależności od wieku kalendarzowego

Rycina 2. Liczba pacjentów w poszczególnych grupach badanych w zależności od wieku zachorowania na cukrzycę typu 1

Rycina 3. Liczba pacjentów z cukrzycą typu 1 w poszczególnych grupach badanych w zależności od stopnia powkitania

Rycina 4. Przeciwciała przeciw cytoplazmie granulocytów obojętnochołnych (pANCA)-obraz z mikroskopu fluorescencyjnego

Rycina 5. Przeciwciała dla komórek śluzotwórczych jelita (GAb)-obraz z mikroskopu fluorescencyjnego

Rycina 6. Przeciwciała przeciw *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA)-obraz z mikroskopu fluorescencyjnego

Rycina 7. Przeciwciała dla części zewnątrzwydzielniczej trzustki (PAb)-obraz z mikroskopu fluorescencyjnego

Rycina 8. Przeciwciała przeciw endomysium mięśni gładkich (EmA)-obraz z mikroskopu fluorescencyjnego

Rycina 9. Porównanie średniej wartości wskaźnika BMI w poszczególnych grupach chorych z cukrzycą

Rycina 10. Porównanie średniego dobowego zapotrzebowania na insulinę w poszczególnych grupach chorych z cukrzycą

Rycina 11. Porównanie średnich wartości liczby leukocytów w grupach I, II, III i IV.

Rycina 12. Porównanie średnich wartości liczby płytek krwi w grupach I, II, III i IV

Rycina 13. Porównanie średnich wartości wskaźnika MCV w grupach I, II, III i IV

Rycina 14. Porównanie średnich wartości stężenia białka całkowitego grupach I, II, III i IV

Rycina 15. Porównanie średnich wartości stężenia ALT w grupach I, II, III i IV

Rycina 16. Porównanie średnich wartości odsetka HbA1c w grupach I, II i III

Rycina 17. Występowanie choroby trzewnej u poszczególnych pacjentów w zależności od czasu trwania cukrzycy

Rycina 18. Porównanie średniej wartości liczby leukocytów w badanej grupie chorych z cukrzycą i chorobą trzewną oraz w pozostałej grupie chorych z cukrzycą

Rycina 19. Występowanie przeciwciał EmA i ASCA w grupie chorych z cukrzycą i współistniejącą chorobą trzewną (badanie I i II)

Rycina 20. Częstość występowania schorzeń współistniejących w grupie 100 chorych z cukrzycą typu 1

15. Spis aneksów

Aneks 1. Charakterystyka chorych z cukrzycą i obecnymi przeciwciałami charakterystycznymi dla autoimmunizacyjnych schorzeń jelit (badanie I)

Aneks 2. Charakterystyka chorych z cukrzycą i obecnymi przeciwciałami charakterystycznymi dla autoimmunizacyjnych schorzeń jelit (badanie II)

Aneks 3. Dane auksologiczne chorych z cukrzycą typu 1 (grupa I)

Aneks 4. Dane auksologiczne chorych z cukrzycą typu 1 (grupa II)

Aneks 5. Dane auksologiczne chorych z cukrzycą typu 1 (grupa III)

Aneks 6. Klasyfikacja zmian histopatologicznych w chorobie trzewnej (zmodyfikowana skala wg Marsha)

n	pacjent	pleć	wiek [m-ce]	czas trwania [m-ce]	ASCA IgA	ASCA IgG	Gab	Pab	EmA	inne schorzenia	objawy
1	SK	K	131	93	-	+	-	-	-	ch. Hashimoto	brak
2	ŚM	K	210	132	-	+	-	+	-	ch. trzewna, ch. Hashimoto	brak
3	LM	M	142	59	-	+	-	+	-	brak	brak
4	JT	M	183	38	-	+	-	+	-	brak	brak
5	TA	M	74	15	-	+	-	+	-	brak	brak
6	MK	M	79	9	-	+	-	-	-	brak	brak
7	TD	M	198	45	-	+	-	-	-	brak	brak
8	WS	K	163	87	-	+	-	+	-	ch. Hashimoto	sporadyczne
9	MS	M	207	65	-	+	-	+	-	brak	sporadyczne
10	JD	M	101	75	-	+	-	-	-	brak	brak
11	ŻM	M	188	81	-	+	-	-	-	brak	brak
12	ŚS	M	121	85	-	++	-	-	+	ch. trzewna	obecne
13	GD	M	157	1	+	+	-	-	-	brak	brak
14	MD	K	108	1	-	+	-	-	-	brak	obecne
15	WJ	K	28	1	-	+	-	-	-	brak	brak
16	KZ	K	81	1	-	+	-	-	+	ch. trzewna	obecne
17	GK	K	192	1	-	+	-	-	-	brak	brak
18	SM	M	42	1	-	+	-	-	-	brak	obecne
19	CK	K	144	37	-	+	-	-	-	brak	obecne
20	BA	K	211	84	-	++	-	-	-	ch. Hashimoto	brak
21	MD	M	181	129	-	+	-	-	-	brak	brak
22	FK	K	198	1	-	+	-	-	-	brak	brak
23	JA	K	138	1	-	+	-	-	+	ch. trzewna ch. Hashimoto	brak
24	TJ	M	157	109	+	+	-	-	+	ch. trzewna	brak
25	GT	M	157	8	-	++	-	-	+	ch. trzewna ch. Hashimoto	brak
26	PG	M	207	120	-	-	+	-	-	brak	brak
Podsumowanie											
26		11\15	146	49,2	2	25	1	6	5	6. ch. trzewna 6 ch. Hashimoto	7

Aneks 1. Charakterystyka chorych z cukrzycą i obecnymi przeciwciałami charakterystycznymi dla autoimmunizacyjnych schorzeń jelit (badanie I)

n	pacjent	pleć	wiek [m-ce]	czas trwania [m-ce]	ASCA IgA	ASCA IgG	Gab	Pab	EmA	inne schorzenia	objawy
1	SK	K	140	102	-	++	-	-	-	ch.Hashimoto	brak
2	ŚM	K	215	136	-	+	-	+	+	ch. trzewna ch.Hashimoto	obecne
3	LM	M	155	72	-	+	-	+	-	brak	brak
4	JT	M	192	47	-	+	-	+	-	brak	brak
5	MK	M	85	15	-	+	-	-	-	brak	brak
6	WS	K	171	95	-	+	-	+	-	ch.Hashimoto	brak
7	MS	M	215	73	-	+	-	+	-	brak	brak
8	JD	M	107	81	-	+	-	-	-	brak	brak
9	ŻM	M	192	85	-	+	-	-	-	brak	brak
10	ŚS	M	126	90	-	++	-	-	+	ch. trzewna	obecne
11	GD	M	162	6	+	+	-	-	-	brak	brak
12	MD	K	113	6	-	++	-	-	-	brak	brak
13	WJ	K	38	10	-	+	-	-	++	ch. trzewna	okresowe
14	KZ	K	87	7	-	+	-	-	-	ch. trzewna	brak
15	GK	K	199	8	-	+	-	-	-	brak	brak
16	SM	M	47	5	-	+	-	-	-	brak	obecne
17	CK	K	150	43	-	+	-	-	-	brak	obecne
18	BA	K	217	90	-	+++	-	-	-	ch. Hashimoto	brak
19	MD	M	185	133	-	+	-	-	-	brak	brak
20	FK	K	203	6	-	+	-	-	-	brak	brak
21	JA	K	142	5	-	+	-	-	+	ch. trzewna ch.Hashimoto	brak
22	TJ	M	165	117	+	++	-	-	++	ch. trzewna	brak
23	PG	M	207	120	-	-	+	-	-	brak	brak
24	GT	M	160	11	-	++	-	+	+	ch. trzewna ch.Hashimoto	brak
Podsumowanie											
24		11/13	153	56,8	2	23	1	5	6	7 ch. trzewna 6.ch.Hashimoto	5

Aneks 2. Charakterystyka chorych z cukrzycą i obecnymi przeciwciałami charakterystycznymi dla autoimmunizacyjnych schorzeń jelit (badanie II)

pacjent	pleć	wiek [lata]	wzrost [cm]	wzrost [SDS]	BMI [kg/m ²]	BMI [SDS]
DG	K	11,6	149,0	0,58	17,43	-0,15
BD	M	6,8	119,0	0,96	14,12	0,69
MJ	M	7,8	126,0	0,57	16,38	-1,06
TA	M	6,2	122,0	-0,74	16,80	-0,04
PK	K	15,3	158,1	0,84	17,60	0,56
MK	M	6,6	118,0	1,15	15,08	-0,77
MM	K	13,8	152,4	1,54	14,21	-0,87
KA	M	15,3	171,3	-1,33	19,42	-2,06
GD	M	13,1	154,5	0,58	18,85	-0,33
MD	K	9,0	124,0	1,82	13,98	-0,15
SM	M	11,8	149,0	0,54	16,76	-0,84
ZD	K	13,5	163,5	-0,28	16,83	-0,74
WJ	K	2,3	90,1	-1,26	13,55	-0,82
SP	M	4,5	117,0	-1,11	13,22	-1,78
KK	M	11,3	141,0	0,72	14,59	-1,58
KZ	K	6,8	118,0	0,90	14,36	-1,17
GK	K	16,0	169,0	-0,78	17,09	-0,80
TW	M	4,4	103,5	0,31	14,75	-1,42
NŁ	M	3,0	95,1	0,38	14,37	-0,71
SM	M	3,5	94,7	2,40	15,95	0,08
IA	K	5,4	116,0	-1,24	15,61	-0,14
FK	K	16,5	164,0	2,23	20,82	0,04
JA	K	11,5	146,0	1,03	16,42	0,01
GT	M	13,1	173,0	-1,52	17,88	-0,51
KK	M	2,4	89,5	-0,39	17,48	-0,46
WB	K	13,6	167,0	-2,15	15,96	0,45
MO	K	10,2	139,5	0,12	16,96	-1,14
SG	K	2,5	93,8	0,53	16,71	-0,17
CA	K	3,7	97,0	1,54	17,00	0,23
CP	K	8,9	130,0	0,84	17,46	1,01
MD	M	17,3	193,0	-2,30	19,70	0,48

Aneks 3. Dane anksologiczne chorych z cukrzycą typu 1 (grupa I)

pacjent	pleć	wiek [lata]	wzrost [cm]	wzrost [SDS]	BMI [kg/m ²]	BMI [SDS]
BE	K	13,0	159,00	-0,02	16,22	-0,77
BS	M	4,9	108,00	0,89	16,98	-1,05
SB	M	17,3	175,00	0,52	20,24	0,75
GM	K	10,3	150,00	-1,45	17,78	-0,75
LG	M	6,2	113,00	0,93	13,31	0,13
SK	M	15,9	173,00	0,50	19,71	-1,46
MP	K	14,4	162,50	-0,11	19,31	-0,53
JM	M	10,6	131,80	2,16	17,27	-0,07
LM	M	11,8	168,00	-2,48	19,84	-0,21
GD	K	12,2	143,00	1,48	14,52	-1,18
PD	K	13,4	154,70	0,69	22,77	1,34
CK	M	12,1	161,20	-1,40	18,16	-0,30
PS	K	12,9	161,00	-0,34	19,10	-0,00
WP	M	15,6	183,00	-1,02	21,20	0,31
TZ	K	17,3	160,10	0,93	23,41	0,70
JT	M	15,3	173,00	-0,22	21,38	0,38
BM	M	12,1	150,60	0,29	16,75	-0,74
KP	M	16,3	173,10	0,48	20,69	-0,15
JM	M	11,9	152,50	-0,02	18,27	-0,27
SJ	M	13,7	144,30	2,42	17,05	-0,84
TD	M	16,5	180,60	-0,36	20,85	-0,09
CP	K	11,8	151,00	0,27	17,98	-0,12
MS	M	17,3	178,40	-0,02	26,08	1,76
LN	K	16,7	174,00	-1,65	24,11	1,03
JU	K	12,5	150,90	1,31	22,18	1,24
GM	K	12,3	141,00	1,79	21,63	1,06
KM	M	8,1	128,20	0,18	14,91	-0,56
KA	K	12,5	156,30	0,43	17,19	-0,38
KA	K	9,0	126,40	1,43	15,52	-0,25
CK	K	12,0	159,00	-0,94	18,00	-0,12
BE	K	13,7	160,70	0,18	21,10	0,56
UK	K	11,4	158,60	-1,58	17,89	0,01
WG	M	14,8	180,3	2,80	21,29	0,34

Aneks 4. Dane auksologiczne chorych z cukrzycą typu 1 (grupa II)

pacjent	pleć	wiek [lata]	wzrost [cm]	wzrost [SDS]	BMI [kg/m ²]	BMI [SDS]
KS	K	10,9	150,50	-0,44	16,60	-0,46
BW	M	16,8	170,00	1,30	27,13	2,17
AZ	K	17,1	159,00	1,13	24,92	1,30
SJ	K	15,2	170,80	-1,25	20,22	-0,03
ŚM	K	17,5	159,00	1,07	27,69	2,25
WP	K	11,8	149,00	0,58	16,98	-0,45
KK	K	15,3	155,00	1,34	23,02	1,04
SJ	K	12,9	150,00	1,46	23,11	1,46
SM	M	13,6	162,00	0,43	19,05	-0,46
DK	K	17,1	159,00	1,13	18,99	-0,72
LM	K	14,1	155,70	1,00	20,62	0,38
MB	K	13,8	166,00	-0,69	19,42	-0,25
PG	M	17,3	178,40	-0,02	24,51	1,13
SK	M	14,0	157,80	0,90	19,08	-0,22
WS	K	13,6	149,10	2,08	17,09	-0,96
ŁM	M	16,2	189,00	-1,92	21,14	0,02
ŚL	M	14,9	163,30	1,19	20,06	-0,10
JD	M	8,4	135,30	-1,09	15,84	-0,23
ŻM	M	15,7	174,90	0,21	19,29	-0,70
SS	M	10,1	143,70	-0,37	20,82	1,08
PR	K	18,0	167,00	-0,25	27,25	2,52
KK	K	12,8	157,80	0,18	15,86	-1,18
BA	K	17,6	161,60	0,64	24,51	1,39
MD	M	15,1	173,50	-1,69	20,60	0,09
GJ	M	16,5	182,80	-0,70	20,80	-0,11
KK	M	13,8	161,40	0,49	23,80	1,21
FJ	K	17,2	169,70	1,34	20,83	-0,09
ZE	K	12,9	157,90	0,16	22,06	1,08
TM	K	13,2	162,80	-0,64	20,56	0,53
PK	K	13,8	164,50	-0,44	19,77	0,05
JT	M	12,7	154,60	0,70	18,62	-0,23
HG	M	11,7	157,50	-0,81	18,14	-0,31
TJ	M	13,1	148,00	1,32	16,89	-0,76
PM	M	11,8	144,20	1,30	15,87	-1,01
MM	M	17,8	183,20	-0,75	22,94	0,48
SS	M	17,6	177,60	0,13	18,83	-1,12

Aneks 5. Dane auksologiczne chorych z cukrzycą typu 1 (grupa III)

typ O: przednaciekowy-budowa mikroskopowa błony śluzowej jest prawidłowa, liczba limfocytów śródnabłonkowych mniejsza niż 40/100 komórek nabłonkowych
typ 1: naciekowy-zachowana prawidłowa struktura kosmków i wielkość krypt, jedyne odchylenie to naciek śródnabłonkowy złożony z limfocytów (ponad 40 limfocytów śródnabłonkowych/100 komórek nabłonkowych->40IEL/100EC)
typ 2: hiperplastyczny-prawidłowa architektura kosmków, zwiększona liczba limfocytów śródnabłonkowych i hiperplazja krypt
typ 3: destrukcyjny, w którym-w zależności od stopnia uszkodzenia kosmków wyróżnia się 3 podtypy ze zwiększoną do ponad 40 IEL/100 EC
3 a-lagodne skrócenie kosmków i wydłużenie krypt
3 b-znaczące skrócenie kosmków i wzrost wysokości krypt
3 c-płaska błona śluzowa (bez kosmków) i wzrost wysokości krypt
typ 4: hipoplastyczno-zanikowy-charakteryzuje się płaską błoną śluzową z normalną wysokością krypt oraz prawidłową liczbą limfocytów śródnabłonkowych

Aneks 6. Klasyfikacja zmian histopatologicznych w chorobie trzewnej

(zmodyfikowana skala wg Marsha) Przewlekłe schorzenia

przewodu pokarmowego

u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1