Ocena stężenia wybranych markerów procesu miażdżycowego u dzieci i młodzieży z cukrzycą typu 1

Evaluation the concentration of selected markers of the atherosclerosis process in children with diabetes type 1

Julita Nocoń-Bohusz, Anna Noczyńska

Katedra i Klinika Endokrynologii i Diabetologii Wieków Rozwojowego, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Department of Endocrinology and Diabetology for Children & Adolescents, Medical University of Wrocław

Słowa kluczowe

cukrzyca typu 1, markery stanu zapalnego, pamięć metaboliczna

Key words

diabetes type1, parameters of chronic inflammation, metabolic memory

Streszczenie

Wstęp. Hiperglikemia prowadzi do powolnie postępujących zmian w obrębie zarówno drobnych, jak i dużych naczyń krwionośnych. Celem pracy była: ocena wpływu stanu wyrównania metabolicznego, parametrów gospodarki lipidowej oraz czasu trwania cukrzycy na stężenie markerów procesu miażdżycowego u dzieci z cukrzycą typu 1 oraz dzieci grupy kontrolnej. **Materiał i metody.** Badaniem objęto 71 pacjentów (35 dziewcząt i 36 chłopców) w wieku od 7 do 17 lat leczonych z powodu cukrzycy typu 1 od 6 do 60 miesięcy. Badano: stężenie glikemii na czczo, HbA1c, parametry gospodarki lipidowej (TC, TG, HDL-C, LDL-C) oraz markery stanu zapalnego: hsCRP, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α . **Wyniki.** Dzieci z cukrzycą typu 1 miały IS niższe stężenia TG oraz wyższe stężenia HDL cholesterolu oraz IL-10, zaś stężenia hsCRP oraz IL-6 w grupie z cukrzycą były wyższe, ale na granicy IS. U dzieci z HbA1c < 8% stężenia TG cholesterolu były IS niższe, natomiast HDL-C cholesterolu i IL-10 były wyższe od wyników dzieci grupy kontrolnej. Dzieci z HbA1c > 8% miały IS wyższy wskaźnik BMI, wyższe stężenie LDL-C cholesterolu i IL-6 w porównaniu z wynikami grupy kontrolnej. Wykazano IS dodatnią korelację odsetka HbA1c ze stężeniem TG oraz IS ujemną HbA1c ze stężeniem HDL-C. Nie stwierdzono korelacji pomiędzy wskaźnikiem BMI a stężeniem hsCRP. Nie wykazano istnienia korelacji stężenia HbA1c a stężeniami markerów za-

Abstract

Objective. Hyperglycemia leads to slowly progressing changes within both small and large arteries. **Aims of the work** were to investigate how metabolic control, serum lipid profiles and durations of diabetes affect on the concentration of the selected markers of the atherosclerosis process in patients with diabetes type 1 and control group. **Material and methods.** 71 patients (35 girls and 36 boys) were included in the study, ages from 7 to 17, treated because of diabetes type 1 within the period of 6 to 60 months. In children the tests were carried for the level of glycemia on an empty stomach, HbA1c, parameters of lipid management: total cholesterol (TC), triglycerides (TG), LDL-C, HDL-C and inflammation markers: hsCRP, interleukin: IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α . **Results.** Results of children with diabetes type 1 have observed significantly lower concentration of TG and significantly higher concentration of cholesterol fraction HDL and IL-10. In children with diabetes type 1 a greater inflammation condition was noted and expressed by higher, although oscillating on the border of statistic relevance concentration of hsCRP and of IL-6. Better lipid management parameters shown such as statistically significant lower concentration of TG and statistically significant higher concentration of HDL-C and IL-10 were observed in children with diabetes type 1 with better metabolism correction evaluated as HbA1c<8% (subgroup1). Comparing the test results of children with diabetes type 1 with worse meta-

palnych. Dzieci chorujące < 2 lata na cukrzycę w porównaniu z grupą kontrolną miały IS niższe stężenia TG, a wyższe HDL-C i IL-10. Dzieci leczone > 2 lata na cukrzycę typu 1 w porównaniu z grupą kontrolną miały wyższe, na granicy IS, stężenia hsCRP oraz IL-6. **Wnioski.** 1. Na zaburzenia gospodarki lipidowej wpływa stopień wyrównania metabolicznego, czas trwania cukrzycy oraz wskaźnik BMI badanych dzieci. 2. U dzieci z cukrzycą typu 1 od pierwszych lat trwania choroby obserwuje się wyższe stężenia hsCRP, IL-6 oraz IL-10 w porównaniu do dzieci zdrowych.

Endokrynol. Ped. 2016.14.1.54.17-27.
© Copyright by PTEiDD 2016

bolism control evaluated as HbA1c >8% (subgroup 2) and the test results of children in control group I have observed statistically significant higher BMI indicator, higher concentration of cholesterol fraction LDL and IL-6. Statistically significant positive correlation of the percentage of HbA1c with the concentration of TG and significantly negative correlation HbA1c with the concentration HDL-C was proved. In the work presented no correlations has been shown between metabolism correction measured HbA1c and the concentration of inflammatory markers were proved as well as between BMI indicator and the concentration of hsCRP. In subgroup A (diabetes duration time <2 years) of children with diabetes type 1 in comparison with control group I have observed better statistically significant lower concentration of TG and significantly higher concentration of HDL-C and IL-10. In subgroup B (diabetes duration time >2 years) of children with diabetes type 1 in comparison with control group a higher and oscillating on the border of relevance concentration of hsCRP and IL-6 were noticed. **Conclusions.** 1. Parameters of lipid management positively correlate with metabolism correction, the duration of the diabetes and body mass index (BMI) 2. In children with diabetes type 1 since the early years of the disease there have been observed higher concentrations of hsCRP, IL-6, and IL-10 in comparison to healthy children.

Pediatr. Endocrinol. 2016.14.1.54.17-27.
© Copyright by PTEiDD 2016

Wstęp

Cukrzyca w swoim przebiegu prowadzi do rozwoju powikłań upośledzających czynności wielu układów i narządów. Powikłania przewlekłe, a szczególnie choroby sercowo-naczyniowe, są najczęstszą przyczyną zgonów u zmagających się z tą chorobą. Głównym czynnikiem patogennym w rozwoju powikłań naczyniowych jest hiperglikemia [1]. W warunkach hiperglikemii w organizmie uruchomione zostają patologiczne przemiany metaboliczne, jak szlak poliolowy, heksozaminowy i nieenzymatyczna glikacja białek. Hiperglikemia aktywuje apoptozę komórek β , za co odpowiadają cytokiny wydzielane przez subpopulację limfocytów Th1: interferon γ (INF γ), interleukina 2 (IL-2) i 18 (IL-18) oraz interleukiny wydzielane przez makrofagi: IL-1, IL-6, IL-8 i IL-12 a także czynnik martwicy nowotworów (TNF α). Uważa się, że cytokiny wydzielane przez subpopulację limfocytów Th2: IL-4, IL-5, IL-10 i IL-13 działając ochronnie,

hamują aktywność limfocytów Th1, co jest szczególnie zaznaczone w początkowej fazie choroby [2,3]. W wyniku odpowiedzi na stan zapalny dochodzi do produkcji specyficznych białek surowicy krwi, będących mediatorami toczącego się w organizmie procesu zapalnego [4].

Białko CRP, a szczególnie hsCRP (*high sensitivity*, CRP) jest czułym i silnym markerem toczącego się ostrego i przewlekłego procesu zapalnego. Białko to produkowane jest głównie w wątrobie w odpowiedzi na inne mediatory zapalenia, szczególnie IL-6, IL-1 β , TNF α . Wykazano, że nawet nieznacznie podwyższone stężenia hsCRP, bez towarzyszących objawów klinicznych zapalenia, stanowi duże ryzyko rozwoju chorób sercowo-naczyniowych [5]. TNF α pobudza wraz z IL-2 i IL-6 proliferację i różnicowanie limfocytów B i T, wzmacnia funkcję autoreaktywnych limfocytów CD4 i CD8 oraz wpływa na funkcję i ilość limfocytów Treg, hamując ich aktywność supresorową. TNF α , wzmacnia działanie makrofagów i neutrofilów,

stymuluje produkcję innych cytokin zapalnych, pobudza syntezę wolnych rodników tlenowych oraz peroksydację lipidów, a poprzez zwiększenie ekspresji receptorów dla monocytów na komórkach uszkodzonego śródbłónka nasila proces miażdżycy. Działanie biologiczne TNF α zależy od interakcji ze swoistym receptorem, a także od ilości receptorów na powierzchni komórek docelowych. Poznano 2 typy receptorów dla TNF- α : TNFR1 (55kDa) oraz TNFR2 (75kDa). Postać błonowa TNF- α wiązana jest głównie przez receptor TNFR1 [6].

Interleukiny odgrywają istotną rolę w odpowiedzi immunologicznej i zapalnej [7]. Najważniejszą i najbardziej poznaną interleukiną jest IL-1 β . Interleukina ta pobudza proliferację i różnicowanie limfocytów B, nasila ich chemotaksję, a wraz z IL-6 i TGF β (*transforming growth factor*) pobudza różnicowanie się limfocytów w kierunku Th17, odpowiedzialnych za szybką odpowiedź zapalną oraz migrację neutrofilów. Ponadto pobudza ona produkcję cytokin zapalnych: IL-2, IL-6, TNF- α , IFN- γ , a wraz z innymi cytokinami zapalnymi przyczynia się do destrukcji komórek β trzustki [8, 9].

IL-6 pobudza proliferację i różnicowanie limfocytów B do komórek plazmatycznych produkujących przeciwciała, a limfocytów T do limfocytów cytotoksycznych Tc. Ponadto aktywuje syntezę białek ostrej fazy w wątrobie, zwłaszcza białka CRP. Białko C reaktywne indukując ekspresję cząsteczek adhezyjnych przez komórki śródbłónka, przyczynia się do rozwoju procesu zapalnego. Jego wzrost stanowi niezależny czynnik ryzyka chorób sercowo-naczyniowych [10,11].

Interleukina-10 to cytokina przeciwzapalna, hamująca odpowiedź typu komórkowego. Pełni rolę antyaterogenną oraz antyangiogenną, hamuje produkcję limfocytów Th1 oraz wytwarzanych przez nie cytokin zapalnych: IFN- γ , IL-2, a także produkcję cytokin zapalnych produkowanych przez makrofagi i monocyty: IL-1 α , IL-6, TNF α . Przeciwzapalne działanie IL-10 polega na aktywacji limfocytów Treg, podtrzymywaniu ich funkcji regulatorowych, oraz na hamowaniu niedojrzałych limfocytów T [12].

Wieloletnia obserwacja pacjentów z cukrzycą wykazała, że podwyższone stężenia glukozy oraz zaburzenia lipidowe są przyczyną uszkodzenia funkcji komórek śródbłónka, a także aktywacji stresu oksydacyjnego odpowiedzialnego za zjawisko „glukolipotoksyczności”. Badania wykazały, że korzyści wynikające z dobrej kontroli metabolicznej

cukrzyca od samego początku jej trwania utrzymują się przez wiele lat, natomiast zła kontrola metaboliczna przyspiesza rozwój późnych powikłań narządowych.

Cele pracy

1. Określenie stężeń wybranych markerów procesu miażdżycowego: hsCRP, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α , i parametrów gospodarki lipidowej (TC, LDL-C, HDL-C, TG) u dzieci z cukrzycą typu 1 oraz porównanie wyników badań z wynikami badań u dzieci zdrowych.

2. Określenie, w jakim stopniu stężenie HbA1c oraz czas trwania cukrzyki wpływają na stężenia markerów procesu miażdżycowego u dzieci z cukrzycą typu 1.

Materiał i metody

Badaniem objęto 71 pacjentów (35 dziewcząt i 36 chłopców) w wieku od 7 do 17 lat leczonych z powodu cukrzyki typu 1 trwającej od 6 do 60 miesięcy. Z badań wykluczono osoby z chorobami infekcyjnymi oraz chorobami przewlekłymi, mogącymi mieć wpływ na wyniki badania. Grupę kontrolną stanowiło 20 dzieci (9 dziewcząt i 11 chłopców) zdrowych w wieku od 6,5 do 16 lat. Na wykonanie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy UM we Wrocławiu oraz świadomą, pisemną zgodę rodzica/opiekuna prawnego oraz pacjenta. Charakterystykę kliniczną pacjentów przedstawiono w tabeli I.

U dzieci oceniano stopień dojrzenia płciowego wg Tannera, mierzono RR krwi w warunkach szpitalnych zgodnie z obowiązującymi zasadami. Dzieci były ważone na wadze elektronicznej z dokładnością 1 g, mierzone stadiometrem Harpendera z dokładnością 1 mm. Badanym dzieciom obliczono wskaźnik BMI (masa ciała/wzrost²). Do badania poziomów glukozy metodą ciągłego monitorowania CGMS (Continuous Glucose Monitoring Systems) użyto elektrody współpracującej z aparatem „Guardian” lub pompą insulinową firmy Medtronic. Do kalibracji urządzenia CGM używano glukometru OneTouch Select firmy Lifescan. W drugim dniu pobytu dziecka w oddziale na czczo pobierano krew z żyły łokciowej zgodnie z obowiązującymi standardami dobrej praktyki lekarskiej. Badano: morfologię krwi, markery stanu zapalnego, parametry

Tabela I. Charakterystyka grupy badanej i grupy kontrolnej**Tabela I.** Clinical characteristic of patients with diabetes mellitus type 1 and the patients in control group

Cecha	Grupa chorych N = 71	Grupa kontrolna N = 20	P
Płeć (K/M)	35/36	9/11	0,931
Wiek (lata)	7–17,5; X = 12,4; M = 13; SD = 3,0	6,5–16; X = 11,8; M = 12; SD = 3,0	0,459
BMI (kg/m ²)	14–28,1 X = 19,5; M = 18,7; SD = 3,3	13,9–24,4 X = 19,1; M = 18,5 SD = 3,1	0,783
RR skurcz. (mmHg)	70–117 X = 108,3; M = 108, SD = 12,7	90–119 X = 107,7; M = 110; SD = 9,3	0,937
RR rozkurcz. (mmHg)	40–100 X = 67,8; M = 68,5; SD = 11,9	40–78 X = 67; M = 70; SD = 9,6	0,764
HbA1c (%)	5,6–13,9 X = 7,79; M = 7,2; SD = 1,85	–	–
TCh	102–267 X = 166,7; M = 161; SD = 30,6	106–234 X = 159,2; M = 151; SD = 28,2	0,306
LDL	36–173 X = 85,7; M = 84,5; SD = 25,4	45–128 X = 82,4; M = 79; SD = 22	0,563
TGA	25–184 X = 70,7; M = 61; SD = 32,2	45–131 X = 84,6; M = 81,5; SD = 29,1	0,0374
HDL	37–103 X = 65,7; M = 67; SD = 13,8	36–78 X = 58,1; M = 60,5; SD = 11,6	0,0397

oceniające funkcję wątroby oraz parametry gospodarki lipidowej. Określono stężenie glikemii na czczo, stężenia: HbA1c, TSH, fT4, fT3, ATPO oraz przeciwciał przeciw transglutaminazie tkanekowej w klasie IgA i IgG. Warunkiem przystąpienia do badania było stężenie glukozy na czczo mieszczące się w przedziale 80–120 mg% oraz brak hipoglikemii w godzinach nocnych, zarejestrowany urządzeniem CGM. Każdemu dziecku pobierano krew na badanie: hsCRP, IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α i TNFRI. Stężenie hsCRP w surowicy

oznaczono metodą immunoenzymatyczną, używając gotowych zestawów hsCRP ELISA firmy Domeditec Diagnostics GmbH (Niemcy)

Stężenie interleukiny 1 β , IL-6, IL-10 oraz TNF- α TNFRI oznaczono metodą immunoenzymatyczną, używając gotowych zestawów Quantikine, produkcji R & D Systems (Minneapolis, USA).

Wyniki uzyskanych badań poddano analizie statystycznej. Różnicę istotną statystycznie (IS) przyjęto dla $p < 0,05$, natomiast różnicę na granicy IS dla p w przedziale $0,05 \leq p < 0,1$.

Analizę statystyczną przeprowadzono wykorzystując komputerowy pakiet programów statystycznych EPIINFO Ver. 7.1.1.14 (z dnia 02-07-2013).

Wyniki badań

U dzieci z cukrzycą typu 1 w porównaniu do dzieci grupy kontrolnej stwierdzono IS niższe wartości TG ($70,7 \pm 32,3$ vs $84,6 \pm 29,1$; ($p = 0,0374$), a wyższe HDL-C: $65,7 \pm 13,8$ vs $58,1 \pm 11,6$; ($p = 0,0397$). U dzieci z cukrzycą wartości hsCRP były wyższe, na granicy IS, w porównaniu do dzieci grupy kontrolnej: $0,98 \pm 2,814$ vs $0,356 \pm 0,3$; ($p = 0,0988$). Stężenia IL-6 u dzieci z cukrzycą były wyższe od jej wartości u dzieci zdrowych ($1,87$ vs $1,5$), ale różnica nie była IS ($p = 0,093$). Stężenia IL-10 ($1,34$ vs $0,895$; $p = 0,156$) oraz TNF α ($2,14$ vs $2,03$; $p = 0,66$) u dzieci z cukrzycą i dzieci zdrowych nie różniły się IS (tabela II).

W celu ustalenia wpływu wyrównania metabolicznego na gospodarkę lipidową oraz stężenia cytokin dzieci z cukrzycą typu 1 podzielono na dwie podgrupy: do podgrupy 1 zaliczono pacjentów, u których HbA1c była $< 8\%$ (54 dzieci), a do podgrupy 2 – pacjentów z HbA1c $> 8\%$ (17 dzieci).

U dzieci podgrupy 1 w porównaniu do grupy kontrolnej stwierdzono IS niższe wartości TG: $59,8 \pm 18,5$ vs $84,6 \pm 29,1$ ($p = 0,0017$) oraz wyższe HDL-C: $67,8 \pm 14,2$ vs $58,1 \pm 11,6$; ($p = 0,0086$). Stężenia IL-10, IL-1 β , IL-6 oraz TNF α u dzieci podgrupy 1 i dzieci grupy kontrolnej nie różniło się IS (tabela III).

U dzieci podgrupy 2 w porównaniu do dzieci grupy kontrolnej stwierdzono wyższy wskaźnik BMI: $21,2 \pm 3,6$ vs $19,1 \pm 3,1$ ($p = 0,0708$) oraz wyższe stężenia TC: $182,3 \pm 41,6$ vs $159,2 \pm 28,2$ ($p = 0,0792$). Różnice te były na granicy IS. Dzieci podgrupy 2 były IS starsze w porównaniu do dzieci grupy kontrolnej: $14,3 \pm 2,1$ vs $11,8 \pm 3,0$ ($p = 0,0082$). Stężenie IL-6 było IS wyższe u dzieci podgrupy 2 w porównaniu do grupy kontrolnej: $1,8 \pm 3,34$ vs $1,5 \pm 1,01$ ($p = 0,0174$), natomiast stężenia pozostałych markerów stanu zapalnego nie różniły się istotnie statystycznie w obu grupach (tabela IV).

Porównanie dzieci z cukrzycą podgrup 1 i 2 wykazało, że dzieci podgrupy 1 były IS młodsze w porównaniu do dzieci podgrupy 2: $11,8 \pm 3,1$ vs $14,3 \pm 2,1$, ($p = 0,0247$), miały IS niższy wskaźnik BMI: $18,9 \pm 3,1$ vs $21,2 \pm 3,6$ ($p = 0,0222$), niższe stężenia TG: $59,8 \pm 18,5$ vs $106,5 \pm 42,1$ ($p = 0,000$) oraz wyższe HDL-C: $67,8 \pm 14,2$ vs $58 \pm 9,3$ ($p = 0,0126$). Stężenia TC ($162 \pm 25,2$ vs $182,3 \pm 41,6$ $p = 0,0778$) oraz LDL-C ($82,2 \pm 22$ vs $98,8 \pm 32,8$ $p = 0,0762$) u dzieci podgrupy 1 były niższe, ale na granicy IS od stężenia u dzieci podgrupy 2. W podgrupie 1 stężenie IL-1 β było IS niższe w porównaniu do dzieci podgrupy 2: $0,209 \pm 0,305$ vs $0,248 \pm 0,249$ ($p = 0,0172$), natomiast stężenia TNF α , IL-6 oraz IL-10 u dzieci w obu podgrupach nie różniły się IS (tabela V).

Uwzględniając czas trwania cukrzycy, badane dzieci podzielono na dwie podgrupy: < 2 lata, N = 35 – podgrupa A i > 2 lata, N = 36 – podgrupa B.

Tabela II. Porównanie wyników oznaczeń markerów stanu zapalnego pomiędzy grupą kontrolną a grupą dzieci z cukrzycą typu 1

Tabela II. Comparison the results of selected markers of the atherosclerosis process between control group and patients with diabetes mellitus type 1

Parametr	Liczba badań	Grupa kontrolna		Liczba badań	Grupa badana		P
		X $\pm$ SD	M		X $\pm$ SD	M	
Glukoza mg/dl	20	$84,3 \pm 8,2$	83,0	71	$113,7 \pm 19,8$	117,0	0,0000
TNF α po/ml	19	$2,03 \pm 0,81$	1,91	70	$2,14 \pm 0,91$	1,97	0,660
TNFR1 pg/ml	19	$1150,9 \pm 170$	1194,5	70	$1233,3 \pm 211,5$	1232,5	0,151
IL-6 pg/ml	19	$1,5 \pm 1,01$	0,83	71	$1,87 \pm 3,03$	1,08	0,0935
IL-1 β pg/ml	19	$0,327 \pm 0,349$	0,175	70	$0,279 \pm 0,571$	0,131	0,133
IL-10 pg/ml	19	$0,895 \pm 0,932$	0,742	71	$1,30 \pm 1,34$	0,89	0,156

Tabela III. Porównanie wyników oznaczeń markerów stanu zapalnego pomiędzy grupą kontrolną a podgrupą 1 dzieci chorujących na cukrzycę

Tabele III. Comparison the results of selected markers of the atherosclerosis process between control group and subgroup 1 children with diabetes mellitus type 1

Parametr	Liczba badań	Grupa kontrolna		Liczba badań	Podgrupa 1		P
		X ± SD	M		X ± SD	M	
Glukoza mg/dl	20	84,3 ± 8,2	83,0	54	114,7 ± 19	117,0	0,0000
TNF α pg/ml	19	2,03 ± 0,81	1,91	53	2,11 ± 0,92	1,98	0,779
TNFR1 pg/ml	19	1150,9 ± 170	1194,5	53	1238,6 ± 231,2	1238,2	0,172
IL-6 pg/ml	19	1,5 ± 1,01	0,83	54	1,54 ± 1,63	0,88	0,238
IL-1 β pg/ml	19	0,327 ± 0,349	0,175	53	0,290 ± 0,633	0,122	0,0880
IL-10 pg/ml	19	0,895 ± 0,932	0,742	54	1,27 ± 1,27	0,85	0,185

Tabela IV. Porównanie wyników oznaczeń markerów stanu zapalnego pomiędzy grupą kontrolną a podgrupą 2 dzieci chorujących na cukrzycę

Tabele IV. Comparison the results of selected markers of the atherosclerosis process between control group and subgroup 2 children with diabetes mellitus type 1

Parametr	Liczba badań	Grupa kontrolna		Liczba badań	Podgrupa 2		P
		X ± SD	M		X ± SD	M	
Glukoza mg/dl	20	84,3 ± 8,2	83,0	17	110,6 ± 22,4	116,0	0,0001
TNFα pg/ml	19	2,03 ± 0,81	1,91	17	2,24 ± 0,88	1,96	0,486
TNFR1 pg/ml	19	1150,9 ± 170	1194,5	17	1216,8 ± 136,9	1205,0	0,247
IL-6 pg/ml	19	1,5 ± 1,01	0,83	17	1,8 ± 3,34	1,0	0,0174
IL-1 β pg/ml	19	0,327 ± 0,349	0,175	17	0,242 ± 0,315	0,171	0,601
IL-10 pg/ml	19	0,895 ± 0,932	0,742	17	1,37 ± 1,6	0,89	0,228

U dzieci podgrupy A obserwowano IS niższe stężenia TG: 66,5 ± 28,6 vs 84,6 ± 29,1 (p = 0,0224) oraz wyższe stężenia HDL-C w porównaniu do dzieci grupy kontrolnej: 66,1 ± 14,5 vs 58,1 ± 11,6 (p = 0,0473). U dzieci podgrupy A stężenia TNFα, IL-6, oraz IL 10 były wyższe, a IL-1β niższe od wyników dzieci grupy kontrolnej, ale nie różniły się IS (tabela VI).

Dzieci podgrupy B w porównaniu do dzieci grupy kontrolnej miały wyższe, na granicy IS, stężenia cholesterolu HDL: 65,2 ± 13,2 vs 58,1 ± 11,6 (p = 0,0848), hsCRP: 0,819 ± 1,277 vs 0,356 ± 0,3 (p = 0,0856) oraz stężenia IL-6 - 2,18 ± 3,37 vs 1,5 ± 1,01 (p = 0,0533). Stężenia TNFα, IL-10 u dzieci

podgrupy B były wyższe, a IL-1β niższe w porównaniu z wynikami dzieci zdrowych, ale różnica nie była IS (tabela VII).

Porównując wyniki badań pomiędzy dziećmi podgrup A i B, nie wykazano IS różnic stężeń markerów procesu zapalnego (tabela VIII). Nie wykazano także IS korelacji pomiędzy stężeniami HbA1c a stężeniami wybranych markerów stanu zapalnego. Obserwowano dodatnią, IS korelację pomiędzy stężeniami HbA1c i TG (r = 0,6; p = 0,000), a ujemną pomiędzy HbA1c a stężeniami cholesterolu HDL (r = - 0,28; p = 0,025). U dzieci z cukrzycą stężenia TG korelowały dodatnio, a cholesterolu HDL ujemnie ze wskaźnikiem BMI

Tabela V. Porównanie wyników oznaczeń markerów stanu zapalnego pomiędzy podgrupami 1 i 2 dzieci chorujących na cukrzycę typu 1

Tabela V. Comparison the results of selected markers of the atherosclerosis between subgroups 1 and 2 children with diabetes mellitus type 1

Parametr	Liczba badań	Podgrupa 1		Liczba badań	Podgrupa 2		P
		X ± SD	M		X ± SD	M	
Glukoza mg/dl	54	114,7 ± 19	117,0	17	110,6 ± 22,4	116,0	0,599
TNFα pg/ml	53	2,11 ± 0,92	1,98	17	2,24 ± 0,88	1,96	0,561
TNFR1 pg/ml	53	1238,6 ± 231,2	1238,2	17	1216,8 ± 136,9	1205,0	0,821
IL-6 pg/ml	54	1,54 ± 1,63	0,88	17	1,8 ± 3,34	1,0	0,228
IL-1 β pg/ml	53	0,290 ± 0,633	0,122	17	0,242 ± 0,315	0,171	0,127
IL-10 pg/ml	54	1,27 ± 1,27	0,85	17	1,37 ± 1,6	0,89	0,877

Tabela VI. Porównanie wyników oznaczeń markerów stanu zapalnego pomiędzy grupą kontrolną a podgrupą A dzieci chorujących na cukrzycę

Tabela VI. Comparison the results of selected markers of the atherosclerosis process between control group and subgroup A children with diabetes mellitus type 1

Parametr	Liczba badań	Grupa kontrolna		Liczba badań	Podgrupa A		P
		X ± SD	M		X ± SD	M	
Glukoza mg/dl	20	84,3 ± 8,2	83,0	35	113,2 ± 22,2	113,0	0,0000
TNFα pg/ml	19	2,03 ± 0,81	1,91	35	2,27 ± 0,95	2,09	0,342
TNFR1 pg/ml	19	1150,9 ± 170	1194,5	35	1241,4 ± 209,2	1226,9	0,163
IL-6 pg/ml	19	1,5 ± 1,01	0,83	35	1,57 ± 2,68	0,80	0,278
IL-1 β pg/ml	19	0,327 ± 0,349	0,175	35	0,29 ± 0,61	0,12	0,186
IL-10 pg/ml	19	0,895 ± 0,932	0,742	35	1,32 ± 1,13	1,10	0,0612

($r = 0,25$; $p = 0,039$) vs ($r = -0,4$; $p = 0,001$). Nie stwierdzono IS zależności pomiędzy wskaźnikiem BMI a stężeniami hsCRP.

Dyskusja

Prawidłowa kontrola glikemii od momentu rozpoznania cukrzycy typu 1 odgrywa kluczową rolę w redukcji / opóźnieniu ryzyka wystąpienia późnych powikłań mikronaczyniowych [13]. Pierwsze doniesienia opisujące wpływ kontroli metabolicznej cukrzycy od momentu jej diagnozy na długofalowe efekty kliniczne oraz istnienie pamięci meta-

bolicznej pochodzą z lat 80. ub. wieku. Zdaniem wielu autorów ryzyko powikłań późnych zwiększa się wówczas, kiedy hiperglikemii towarzyszą zaburzenia gospodarki lipidowej oraz wysokie wartości ciśnienia tętniczego, które u dzieci z cukrzycą typu 1 rozpoznaje się u około 18% chorych [14]. U dzieci z cukrzycą typu 1 w porównaniu do dzieci grupy kontrolnej stwierdzono IS niższe wartości TG, a wyższe cholesterolu HDL. Również u dzieci z cukrzycą typu 1, u których HbA1c była < 8% oraz chorujących krócej niż 2 lata, wartości cholesterolu frakcji HDL były IS wyższe, a TG niższe w porównaniu z dziećmi zdrowymi. Guy i wsp. analizując 512 osób w wieku od 10 do 22

Tabela VII. Porównanie wyników oznaczeń markerów stanu zapalnego pomiędzy grupą kontrolną a podgrupą B dzieci chorujących na cukrzycę

Tabele VII. Comparison the results of selected markers of the atherosclerosis process between control group and subgroup B children with diabetes mellitus type 1

Parametr	Liczba badań	Grupa kontrolna		Liczba badań	Podgrupa B		P
		X	M		X	M	
Glukoza mg/dl	20	84,3 ± 8,2	83,0	36	114,2 ± 17,4	118,0	0,0000
TNFα pg/ml	19	2,03 ± 0,81	1,91	35	2,00 ± 0,85	1,87	0,878
TNFR1 pg/ml	19	1150,9 ± 170	1194,5	35	1225,2 ± 216,5	1238,2	0,228
IL-6 pg/ml	19	1,5 ± 1,01	0,83	36	2,18 ± 3,37	0,86	0,0533
IL-1 β pg/ml	19	0,327 ± 0,349	0,175	35	0,269 ± 0,535	0,138	0,163
IL-10 pg/ml	19	0,895 ± 0,932	0,742	36	1,27 ± 1,54	0,82	0,322

Tabela VIII. Porównanie wyników oznaczeń markerów stanu zapalnego pomiędzy podgrupami A i B dzieci chorujących na cukrzycę typu 1

Tabele VIII. Comparison the results of selected markers of the atherosclerosis between subgroups A and B children with diabetes mellitus type 1

Parametr	Liczba badań	Podgrupa A		Liczba badań	Podgrupa B		P
		X ± SD	M		X ± SD	M	
Glukoza mg/dl	35	113,2 ± 22,2	113,0	36	114,2 ± 17,4	118,0	0,825
TNFα pg/ml	35	2,27 ± 0,95	2,09	35	2,00 ± 0,85	1,87	0,214
TNFR1 pg/ml	35	1241,4 ± 209,2	1226,9	35	1225,2 ± 216,5	1238,2	0,752
IL-6 pg/ml	35	1,57 ± 2,68	0,80	36	2,18 ± 3,37	0,86	0,406
IL-1 β pg/ml	35	0,29 ± 0,61	0,12	35	0,269 ± 0,535	0,138	0,888
IL-10 pg/ml	35	1,32 ± 1,13	1,10	36	1,27 ± 1,54	0,82	0,868

lat z cukrzycą typu 1 trwającą średnio 4,22 lata, u których stężenie HbA1c było < 7,5% i > 7,5%, dowiedli, że bez względu na wyrównanie metaboliczne stężenie cholesterolu HDL było wyższe, a TG niższe u osób z cukrzycą w porównaniu do badanych grupy kontrolnej. Porównując badane podgrupy, autorzy wykazali IS niższe stężenie TG w grupie osób z HbA1c < od 7,5%, co pozostaje w zgodności z wynikami własnych badań [15]. Badania Sieradzkiego dowodzą, że niskie stężenie TG w surowicy pacjentów z dobrze wyrównaną cukrzycą typu 1 można tłumaczyć mechanizmem działania samej insuliny, która przyspiesza usuwa-

nie lipoprotein bogatych w TG [16]. W prezentowanych badaniach wykazano IS dodatnią korelację HbA1c ze stężeniem TG ($r = 0,6$; $p = 0,000$) oraz ujemną ze stężeniem cholesterolu HDL ($r = -0,28$; $p = 0,025$). Podobne wyniki przedstawili Petit i wsp. [17]. Autorzy analizując gospodarkę lipidową u dzieci z cukrzycą typu 1, wykazali IS niższe stężenia TC oraz TG, a wyższe cholesterolu HDL u dzieci bez otyłości w porównaniu z dziećmi z otyłością. Zaburzenia lipidowe u dzieci z otyłością mogą być zbliżone do opisywanych w cukrzycy typu 2. W badaniach własnych wykazano, że dzieci gorzej wyrównane metabolicznie (podgrupa

2) oraz z wyższym wskaźnikiem BMI miały wyższe, ale nie IS stężenie TC w porównaniu do dzieci z HbA1c <8% ($p = 0,0792$). Analizując stężenia TG u dzieci z cukrzycą, wykazano IS dodatnią korelację wskaźnika masy ciała BMI ze stężeniem TG oraz ujemną ze stężeniem cholesterolu HDL. Uzyskane wyniki są zgodne z wynikami badań innych autorów [18]. W pracy wykazano zależność pomiędzy czasem trwania cukrzycy a stopniem wyrównania metabolicznego. Dzieci chorujące na cukrzycę dłużej niż 2 lata były gorzej wyrównane metabolicznie w porównaniu do dzieci z krótszym wywiadem chorobowym, różnica była IS ($p = 0,0093$). Autorzy podkreślają, że istotny wpływ na wyrównanie metaboliczne cukrzycy u nastolatków może mieć okres dojrzewania płciowego, a przyczyną, oprócz wyższego stężenia hormonów diabetogennych (hormon wzrostu, kortyzol), mogą być problemy emocjonalne [19]. W prezentowanej pracy średnia wieku dzieci chorujących na cukrzycę dłużej niż dwa lata wynosiła $13,1 \pm 3,2$, zaś dzieci leczonych poniżej 2 lat – $11,8 \pm 2,7$ ($p < 0,05$).

Stężenie hsCRP jest czułym markerem rokowniczym rozwoju chorób sercowo-naczyniowych, niezależnie od innych czynników ryzyka. Białko to pobudzając układ dopełniacza, nasila miejscową odpowiedź immunologiczną [20]. W prezentowanej pracy stężenie hsCRP u dzieci z cukrzycą typu 1 było wyższe, na granicy IS, w porównaniu do grupy kontrolnej ($p = 0,098$). U dzieci z cukrzycą typu 1 i otyłością prostą obserwowano wyższe stężenie hsCRP w stosunku do dzieci z tą cukrzycą bez towarzyszącej otyłości [20]. Zwraca to uwagę na silny związek hsCRP ze wskaźnikiem BMI [20]. U badanych pacjentów nie wykazano IS korelacji hsCRP i BMI ($p = 0,908$). Nie stwierdzono także IS różnicy stężenia hsCRP w grupie pacjentów z HbA1c < 8% i >8% oraz pomiędzy dziećmi z cukrzycą a grupą kontrolną. Według autorów stan ten może dowodzić istnienia „dobrej pamięci metabolicznej” i utrzymywania się stanu zapalnego na stabilnym poziomie [21]. Wpływ czasu trwania cukrzycy na stężenie białka C reaktywnego potwierdzają badania Kilpatricka i wsp. [20]. W prezentowanej pracy dzieci chorujące na cukrzycę dłużej niż dwa lata miały wyższe stężenia hsCRP w porównaniu z grupą dzieci zdrowych. Różnica ta, najpewniej z uwagi na małe grupy badane, była na granicy IS ($p = 0,0856$). Badania innych autorów nie potwierdziły różnicy stężenia hsCRP u młodych osób z cukrzycą typu 1 leczonych z powodu cukrzycy poniżej i powyżej jednego roku

[22]. Według badaczy wraz z czasem trwania cukrzycy typu 1 hsCRP ewoluuje od roli mediatora nasilającego miejscową tkankową reakcję zapalną w pierwszych latach trwania choroby do roli markera przewlekłego stanu zapalnego toczącego się w organizmie [22].

TNF- α infiltruje wyspy trzustki, indukując stan zapalny, wpływa na rozwój insulinooporności, przyspiesza powstanie powikłań późnych, a także zwiększa toksyczność hiperglikemii, stymulując mechanizmy glikacji białek [23]. W prezentowanych badaniach stężenia TNF- α były nieistotnie statystycznie wyższe w grupie dzieci chorujących na cukrzycę typu 1 w porównaniu z dziećmi grupy kontrolnej i nie korelowały ze stopniem wyrównania metabolicznego jak również z czasem trwania choroby. Podobnych spostrzeżeń dokonano w innych badaniach [24]. Badacze austriaccy stwierdzili wyższe stężenia TNF- α u osób ze świeżo rozpoznaną cukrzycą typu 1 oraz u osób z długim wywiadem chorobowym jak również w chwili ujawnienia się powikłań naczyniowych [25,26]. Badania dowiodły, że obniżenie stężenia TNF- α u dzieci będących w okresie przedcukrzycowym może być czynnikiem ryzyka ujawnienia się cukrzycy typu 1, ponieważ może to świadczyć o upośledzonej odpowiedzi immunologicznej [27].

Interleukiny biorą udział w procesach krwiotworzenia, w reakcjach immunologicznych oraz w procesach zapalnych. Pełnią rolę mediatorów, umożliwiając wzajemne oddziaływanie komórek, w tym krwinek białych. Stymulują ich namnażanie się i różnicowanie, a także aktywność biologiczną. IL-6 działa zarówno pro-, jak i przeciwzapalnie [10]. Dowiedziono, że stężenie IL-6 rośnie wraz ze wzrostem stężenia glukozy we krwi [28]. U osób z cukrzycą IL-6 indukuje stan zapalny *insulitis*, toczący się w obrębie wysp trzustkowych, prowadząc do uszkodzenia komórek β trzustki [28]. IL-6 wspólnie z białkiem C reaktywnym jest ważnym czynnikiem rokowniczym wystąpienia incydentów sercowo-naczyniowych [10].

W prezentowanych badaniach nie stwierdzono IS różnicy stężeń IL-6 u dzieci z cukrzycą typu 1 w porównaniu do dzieci grupy kontrolnej. Wyniki te są zgodne z obserwacjami innych autorów [29]. Nie wykazano także istnienia zależności pomiędzy stężeniem IL-6 a stężeniem HbA1c, co również obserwowano we własnych badaniach. Reis i wsp. stwierdzili wyższe stężenia IL-6 u osób z cukrzycą trwającą 0–10 lat, 10–20 lat oraz > 20 lat w porównaniu z osobami zdrowymi [30]. W badaniach własnych wyższe stężenia IL-6 odnoto-

wano w podgrupie chorych z HbA1c > 8% oraz u dzieci chorujących na cukrzycę typu 1 powyżej 2 lata w porównaniu z dziećmi zdrowymi. Różnicy IS nie stwierdzono pomiędzy grupą dzieci chorujących powyżej 2 lat a dziećmi zdrowymi oraz w podgrupach dzieci z cukrzycą trwającą poniżej i powyżej 2 lat.

IL-1 β , współdziałając z innymi cytokinami, odgrywa znaczącą rolę w T-komórkowo zależnej destrukcji komórek β wysp Langerhansa [31]. W badaniach własnych nie stwierdzono IS różnicy stężeń IL-1 β w grupie dzieci z cukrzycą a grupą kontrolną. Inni autorzy zaobserwowali, że u dzieci z cukrzycą typu 1, zarówno tuż po jej ujawnieniu, jak w dalszym okresie jej trwania (średnio 2,9 $\pm$ 1,0 lat), występują podwyższone stężenia IL-1 β ze szczytem tuż po zachorowaniu [32].

Proces zapalny i związana z nim odpowiedź immunologiczna, wyrażona produkcją IL-1 β , są najsilniejsze w pierwszych miesiącach choroby, co spowodowane jest najprawdopodobniej masową destrukcją komórek β wysp Langerhansa [33]. Odmienne obserwacje dostarcza badanie własne. Stwierdzono niższe, ale nie IS stężenia IL-1 β tylko w podgrupie A (dzieci z cukrzycą trwającą < 2 lat średnio 1,69 $\pm$ 0,49) w porównaniu z grupą kontrolną.

IL-10 jest cytokiną przeciwzapalną hamującą odpowiedź komórkową oraz modyfikującą ekspresję czynników atero- i angiogennych, w tym cząsteczek adhezyjnych. Rola IL-10 w patogenezie cukrzycy typu 1 oraz w indukcji powikłań późnych jest złożona i nie do końca wyjaśniona [34]. W badaniach własnych stężenia IL-10 w grupie dzieci z cukrzycą typu 1 były wyższe, ale nie IS w porównaniu z dziećmi grupy kontrolnej. Wyższe stęże-

nie IL-10 autorzy obserwowali u dzieci z cukrzycą typu 1 po zachorowaniu oraz w dłuższym okresie jej trwania oraz w cukrzycy typu 1 powikłanej nefropatią cukrzycową [34]. Wyższe stężenia IL-10 korelowały także z dłuższym okresem remisji cukrzycy [35].

Według Rapaporta i wsp. ograniczona zdolność obrony limfocytów pomocniczych Th2 i obniżona produkcja IL-10 nie zależą od wyrównania metabolicznego cukrzycy typu 1 jak również od czasu trwania cukrzycy [36]. W prezentowanej pracy nie wykazano korelacji stężenia IL-10 z odsetkiem HbA1c, natomiast wyższe, ale nie IS wartości IL-10 stwierdzono u dzieci, u których HbA1c była < od 8%, oraz u chorujących na cukrzycę powyżej 2 lat w porównaniu z dziećmi zdrowymi. Różnicy IS nie wykazano pomiędzy dziećmi z HbA1c > od 8% oraz chorującymi > 2 lat a grupą kontrolną oraz pomiędzy podgrupami 1 i 2 (HbA1c < 8% vs HbA1c > 8%).

Wnioski

1. Parametry gospodarki lipidowej korelują z wyrównaniem metabolicznym wyrażonym odsetkiem HbA1c, czasem trwania cukrzycy oraz wskaźnikiem BMI.

2. U dzieci z cukrzycą typu 1 stwierdzono wyższe stężenia markerów stanu zapalnego: hsCRP, IL-6, oraz IL-10 w porównaniu do dzieci zdrowych.

3. Stężenia markerów stanu zapalnego u dzieci z cukrzycą typu 1 nie korelują z wyrównaniem metabolicznym ocenianym odsetkiem HbA1c ani z czasem trwania cukrzycy.

Piśmiennictwo / References

1. Obońska K., Grąbczewska Z., Fisz J. et al.: Cukrzyca i dysfunkcja śródbłonna – krótkie spojrzenie na złożony problem. *Folia Cardiologica Excerpta*, 2011;6,2, 109-116.
2. Jorns A., Arndt T., Zu Vilsendorf A.M.: Islet infiltration, cytokine expression and beta cell death in the NOD Mouse, BB rat, Komeda rat, LEW.1AR1-iddm rat and humans with type 1 diabetes. *Diabetologia*, 2014;57(3), 512-521.
3. Karlsson F., Ernerudh J., Ludvigsson J. et al.: Cytokine profile in children during the first 3 months after the diagnosis of type 1 diabetes. *Scand. J. Immunol.*, 2004;59, 517-526.
4. Hashimoto H., Kitagawa K., Hougaku H. et al.: C-reactive protein is an independent predictor of rate of increase in early carotid atherosclerosis. *Circulation*, 2001;104, 63-67.
5. Burke A.P., Tracy R.P., Kolodgie F. et al.: Elevated C-reactive protein values and atherosclerosis in sudden coronary death association with different pathologies. *Circulation*, 2002;105, 2019-2023.
6. Watters O., O'Connor J.: A role for Tumor Necrosis Factor in Ischemia and Ischemic Preconditioning. *J Neuroinflammation*, 2011;8, 87.
7. Spears L.D., Razani B., Semenkovich C.F.: Interleukins and Atherosclerosis: A Dysfunctional Family Grows. *Cell Metabolism*, 2013;11,5, 614-616.
8. Galea J., Brough D.: The role of inflammation and interleukin-1 in acute cerebrovascular disease. *Journal of Inflammation Research*, 2013;6, 121-128.
9. Mills K.H., Dungan L.S., Jones S.A. et al.: The role of inflammasome-derived IL-1 in driving IL-17 responses. *J. Leukoc. Biol.*, 2013;93(4), 489-497.

10. Gabay C.: Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis Research & Therapy*, 2006;8, suppl. 2, 1-6.
11. Wassmann S., Stumpf M., Strehlow K. et al.: Interleukin-6 induces oxidative stress and endothelial dysfunction by overexpression of the angiotensin II type 1 receptor. *Circ. Res.*, 2004;94,4, 534-541.
12. Pierson W., Liston A.: A new role for interleukin-10 in immune regulation. *Immunology and Cell Biology*, 2010;88, 769-770.
13. The diabetes control and complications trial research group. Effect of intensive diabetes treatment on the development and progression of long-term complications in adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus: Diabetes Control and Complications Trial. *Pediatric Diabetes*, 2009;10, 71-81.
14. Maaks D.M., Maniatis A.K., Nadean K. et al.: Total cholesterol and high-density lipoprotein levels in pediatric subjects with type 1 diabetes mellitus. *J. Pediatr.*, 2005;147(4), 544-546.
15. Guy J., Ogden L., Wadwa R.P. et al.: Lipid and lipoprotein profiles in youth with and without type 1 diabetes. The SEARCH for Diabetes in Youth Case Control Study. *Diabetes Care*, 2009;32, 416-420.
16. Sieradzki J. red.: *Cukrzyca*. Via Medica, 2007;2, 25,1, 993-996.
17. Petit D.B., Imperatore G., Palla S.L. et al.: Serum lipids and glucose control: the SEARCH for diabetes in youth study. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.*, 2007;161(2), 159-165.
18. Burchardt P., Zawada A., Wierusz-Wysocka B.: Cardiovascular risk associated with abnormal metabolism of plasma lipoproteins in patients with diabetes mellitus. *Kardiologia Polska*, 2012;70,6, 618-621.
19. Gerstl E.M., Rabl W., Rosenbauer J. et al.: Metabolic control as reflected by HbA1c in children, adolescent and young adults with type 1 diabetes mellitus: combined longitudinal analysis including 27,035 patients from 207 Centers in Germany and Austria during the last decade. *Eur. J. Pediatr.*, 2008;167, 447-453.
20. Kilpatrick E.S., Keevil B.G., Jagger C. et al.: Determinants of raised C-reactive protein concentration in type 1 diabetes. *Q. J. Med.*, 2000;93, 231-236.
21. Cariello A., Ihnat M., Ross K. et al.: Evidence for a cellular „memory” of hyperglycemic stress. *Diabetes*, 2005;54, 218A.
22. Snell-Bergeon J., West N., Mayer-Davis E. et al.: Inflammatory markers are increased in youth with type 1 diabetes: The SEARCH Case-Control Study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2010;95(6), 2868-2876.
23. Szalecki M., Pańkowska E., Piontek E. et al.: TNF- and soluble receptor TNF-type 1 in children with diabetes mellitus type 1. *Pediatr. Endocrinol. Diabetes. Metab.*, 2012;18(1), 9-14.
24. Foss M.C., Foss N.T., Paccola G.M. et al.: Serum levels of tumor necrosis factor in insulin – dependent diabetes mellitus patients. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, 1992;25, 239-242.
25. Lechleitner M., Koch T., Herold A. et al.: Tumor necrosis factor- α plasma level in patients with type 1 diabetes mellitus and its association with glycaemic control and cardiovascular risk factor. *J. Int. Med.*, 2000;248, 67-76.
26. Zorena K., Myśliwska J., Myśliwiec M. et al.: Serum TNF- α level predicts nonproliferative diabetic retinopathy in children. *Mediators Inflamm*, 2007, 92196.
27. Vitali L., De Amici M., D'Annunzio G. et al.: Low serum TNF- α levels in subjects at risk for type 1 diabetes. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, 2000;13(5), 475-481.
28. Wędrychowicz A., Dziatkowiak H., Sztefko K. et al.: The role of interleukin-6 and its interaction with insulin-like growth factor 1 and its binding proteins IGFBP-1, IGFBP-2 and IGFBP-3 in adolescents with type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia Doświadczalna i Kliniczna*, 2003;3,3, 241-247.
29. Wegner M., Araszkievicz A., Pioruńska-Stolzmann M. et al.: Association between IL-6 Concentration and Diabetes – Related Variables in DM1 Patients with and without Microvascular Complications. *Inflammation*, 2013;36(3), 723-728.
30. Reis J.S., Amaral C.A.V., Volpe C.M.O. et al.: Oxidative stress and interleukin-6 secretion during the progression of type 1 diabetes. *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, 2012;56(7), 441-448.
31. Ozer G., Teker Z., Cetiner S. et al.: Serum IL-1, IL-2, TNF α and INF γ levels of patients with type 1 diabetes mellitus and their siblings. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, 2003;16(2), 203-210.
32. Dogan Y., Akarsu S., Ustundag B. et al.: Serum IL-1 β , IL-2, and IL-6 in insulin-dependent diabetic children. *Mediators Inflamm*, 2006, 59206.
33. Ozer G., Teker Z., Cetiner S. et al.: Serum IL-1, IL-2, TNF α and INF γ levels of patients with type 1 diabetes mellitus and their siblings. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, 2003;16(2), 203-210.
34. Myśliwska J., Zorena K., Semetkowska-Jurkiewicz E. et al.: High levels of circulating interleukin-10 in diabetic nephropathy patients. *Eur. Cytokine Netw.*, 2005;16(2), 117-122.
35. Karges B., Durinovic-Belló I., Heinze E. et al.: Immunological mechanisms associated with long-term remission of human type 1 diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev*, 2006;22(3), 184-189.
36. Rapoport M., Mor A., Vardi P. et al.: Decreased secretion of Th2 cytokines precedes up-regulated and delayed secretion of Th1 cytokines in activated peripheral blood mononuclear cells from patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Autoimmun.*, 1998;11(6), 635-642.