

# Hubungan Kadar Vitamin D, Sel T Regulator (CD4<sup>+</sup>Cd25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>) dan Kadar C-Peptida pada Anak dengan Diabetes Melitus Tipe 1

## Correlation between Vitamin D, T Regulator Cell (CD4<sup>+</sup>Cd25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>), and C-Peptida Level in Pediatrics Diabetes Mellitus Type 1

Rurin Dwi S<sup>1</sup>, Harjoedi Adji T<sup>1</sup>, Edy Widjajanto<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Ilmu Kesehatan Anak Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Saiful Anwar Malang

<sup>2</sup>Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

### ABSTRAK

Diabetes melitus tipe 1 bersifat multifaktorial dan bergantung pada kombinasi kompleks dari elemen genetik, epigenetik, molekular dan selular yang menyebabkan kerusakan dari toleransi perifer sehingga menghasilkan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas. Beberapa penelitian menunjukkan kadar vitamin D yang rendah pada penderita DM tipe 1. Penelitian ini dilakukan secara *cross sectional* dengan subjek penelitian penderita DM tipe 1 usia 5-18 tahun, dan kontrol subjek sehat dengan usia yang sama. Kadar vitamin D plasma dan C-Peptida diukur dengan metode ELISA sedangkan jumlah sel T-regulator diukur dengan metode *flowcytometry*. Perbandingan antara kadar vitamin D, jumlah sel T regulator, dan kadar C-peptida dianalisis dengan uji t tidak berpasangan. Hubungan antara vitamin D plasma, jumlah sel T regulator dan C-peptida dianalisis dengan uji korelasi Pearson. Penelitian ini menggunakan 15 sampel dan 15 kontrol. Kadar 25(OH)D<sub>3</sub> secara signifikan lebih rendah pada penderita DM tipe 1 ( $22,07 \pm 5,53$  vs  $32,88 \pm 1,81$  ng/ml;  $p < 0,05$ ). Jumlah sel T regulator pada DM tipe 1 lebih rendah secara bermakna dibandingkan kontrol ( $6,86 \pm 1,20$  vs  $37,86 \pm 9,61$ ;  $p < 0,05$ ), demikian juga kadar C-peptida ( $0,3 \pm 0,11$  vs  $3,40 \pm 1,10$ ;  $p < 0,05$ ). Terdapat korelasi positif yang kuat dan signifikan antara vitamin D<sub>3</sub> dengan jumlah sel T regulator dan kadar C-peptida, dan antara jumlah sel T regulator dengan kadar C-peptida pada penderita DM tipe 1. Dapat disimpulkan bahwa penderita DM tipe 1 mempunyai kadar vitamin D yang lebih rendah dibandingkan normal, dan kondisi ini berhubungan dengan jumlah sel Treg dan kadar C-peptida.

**Kata Kunci:** Diabetes mellitus tipe 1, C-peptida, sel T regulator, vitamin D<sub>3</sub>

### ABSTRACT

*Diabetes mellitus type 1 is multifactorial and depends on a complex combination of genetic, epigenetic, molecular, and cellular elements that cause damage of peripheral tolerance and resulting damage to pancreatic  $\beta$  cells. Some researches show low level of vitamin D in patients with diabetes mellitus type 1. This cross sectional study was conducted on patients with DM type 1 aged from 5 to 18 years old and healthy subjects of the same age as control. Levels of vitamin D and C-peptide were measured using ELISA, while the number of regulatory T cells was measured using flowcytometry method. Comparisons among levels of vitamin D, the number of regulatory T cells, and levels of C-peptide were analyzed with unpaired t test. The relationship among plasma vitamin D, the number of regulatory T cells and C-peptide were analyzed with Pearson correlation test. This study used 15 samples and 15 controls. Level of 25(OH)D<sub>3</sub> was significantly lower in patients with DM type 1 ( $22,07 \pm 5,53$  vs  $32,88 \pm 1,81$  ng/ml;  $p < 0,05$ ). The number of regulatory T cells in type 1 diabetes was significantly lower than those in controls ( $6,86 \pm 1,20$  vs.  $37,86 \pm 9,61$ ;  $p < 0,05$ ), as well as C-peptide levels ( $0,3 \pm 0,11$  vs  $3,40 \pm 1,10$ ;  $p < 0,05$ ). There is a strong positive and significant correlation between vitamin D<sub>3</sub> with the number of regulatory T cells and levels of C-peptide, and between the number of regulatory T cells with levels of C-peptide on patients with diabetes mellitus type 1. It can be concluded that patients with diabetes type 1 have lower level of vitamin D, and this condition is associated with the number of regulatory T cells and level of C-peptide.*

**Keywords:** Diabetes mellitus type 1, C-peptide, regulatory T cells, vitamin D<sub>3</sub>

---

Jurnal Kedokteran Brawijaya, Vol. 28, No. 4, Agustus 2015; Korespondensi: Rurin Dwi S. Laboratorium Ilmu Kesehatan Anak Rumah Sakit Umum Daerah Dr. Saiful Anwar Malang, Jl. Jaksa Agung Suprpto No. 2 Malang Tel. (0341) 366242 Email: rurin\_ika@yahoo.co.id

## PENDAHULUAN

Diabetes Melitus (DM) tipe 1 merupakan penyakit autoimun kronik yang terjadi pada individu yang rentan dan dipicu oleh faktor lingkungan. Pada kondisi ini sel-sel imun menyerang pulau Langerhans pankreas, menghancurkan dan merusaknya sehingga mengurangi bahkan menghilangkan produksinya (1). Pada tahun 2011 di Indonesia didapatkan jumlah penderita DM tipe 1 pada anak yang tercatat sebanyak 720 Penderita (2). Beberapa penelitian menemukan bahwa kadar vitamin D pada penderita dengan DM tipe 1 lebih rendah dibandingkan control (3-4). Vitamin D dapat memperbaiki fungsi sel beta pankreas melalui efek langsung vitamin D pada sekresi insulin karena adanya *vitamin D receptor* (VDR) pada sel beta pancreas (6), ekspresi  $1\alpha$ -hydroxylase pada sel beta pancreas, adanya *vitamin D receptor element* (VDRE) pada promotor gen insulin, aktivasi transkripsi oleh gen insulin oleh  $1,25(\text{OH})\text{D}$ . Efek tidak langsung vitamin D pada sekresi insulin yaitu melalui regulasi kalsium pada sel beta pankreas melalui regulasi calbindin, protein pengikat kalsium pada sitosol (6-7).

T regulator (T reg) merupakan subset limfosit spesifik yang tidak sama dengan sel T konvensional, tidak dapat aktif melawan mikroorganisme infeksi, tetapi menekan respon berlebihan sel imun lainnya. Limfosit T regulator  $\text{CD4}^+\text{CD25}^+$  diduga juga berperan dalam patogenesis DM Tipe 1 dengan cara menghambat spesifik limfosit T  $\text{CD4}^+$  autoantigen islet. Sel-sel ini mengekspresikan Foxp3 dari kromosom x dan penting dalam berkembangnya toleransi perifer (8). Sekresi insulin endogen dapat dilihat dari kadar c-peptida yang dikeluarkan bersama dengan insulin, yang menggambarkan fungsi sel  $\beta$  pankreas (9). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan hubungan antara kadar vitamin D, jumlah sel Tregulator dan kadar c-peptida pada anak dengan DM tipe 1.

## METODE

Penelitian dengan desain *cross sectional* yang dilakukan di Departemen Ilmu Kesehatan Anak Rumah Sakit Umum Daerah (RSUD) Malang, Laboratorium Patologi Klinik dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang dalam jangka waktu 6 bulan mulai bulan Maret 2014. Penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Panitia Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya RSUD Dr. Saiful Anwar Malang dengan nomor 374/EC/KEPK-PPDS/06/2014 dan menyertakan *informed consent* dari setiap partisipan. Subjek penelitian adalah limabelas penderita anak yang terdiagnosis DM tipe 1 dan menjalani rawat jalan di Poli Endokrinologi RSUD Dr. Saiful Anwar Malang selama periode penelitian tanpa infeksi, riwayat atopi, gangguan fungsi liver ataupun ginjal, dan tidak mengonsumsi vitamin D. demikian pula dengan kontrol sehat adalah anak sehat non diabetes dengan kriteria yang sama.

Kadar  $25(\text{OH})\text{D}_3$  plasma diukur dengan metode *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA) menggunakan *Alegria Human Vitamin D ELISA Kit*, nomer katalog ORG 270, dengan satuan ng/ml, dilakukan di Instalasi Laboratorium Sentral RSSA Malang. Kadar vitamin D normal pada anak dinyatakan dengan kadar  $25(\text{OH})\text{D}_3 >30\text{ng/ml}$ , insufisiensi 20-30 ng/ml dan defisiensi jika  $<20\text{ng/ml}$ <sup>10</sup>. Jumlah  $\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{Foxp3}^+\text{Treg}$  dari PBMC (*Peripheral Blood Mononuclear Cells*) diukur dengan

*flowcytometry* dan dianalisis dengan *software BD Cell Quest Pro* dengan satuan persen (%). Kadar C-peptida plasma diukur dengan menggunakan metode *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA). Kadar C-peptida puasa: 1,0-3,0 ng/ml.

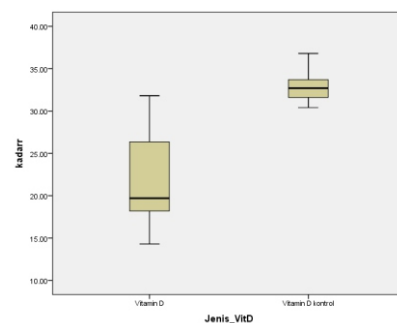
Pada akhir penelitian didapatkan data kuantitatif berupa kadar vitamin D plasma, persentase jumlah sel T regulator, dan kadar C-peptida. Data ditampilkan dengan rerata $\pm$ SD. Perbedaan nilai antar sampel dan kontrol dianalisis dengan menggunakan uji t tidak berpasangan, koefisien korelasi *pearson* (*r*) digunakan untuk melihat kekuatan hubungan antar variabel secara linier. Nilai  $p < 0,05$  menunjukkan hubungan yang bermakna.

## HASIL

Dari 15 orang penderita DM tipe 1 didapatkan rata-rata usia 12,8 $\pm$ 3 tahun, dengan jumlah penderita perempuan dan status gizi baik lebih banyak dibandingkan kelompok kontrol (Tabel 1). Gambaran laboratorium menunjukkan perbedaan hanya pada kadar HbA1C dan SGOT yang lebih tinggi pada penderita DM tipe 1 dibandingkan kontrol. Demikian juga pada kelompok DM tipe 1 seluruhnya ditemukan GAD65+, sedangkan pada kontrol tidak ditemukan.

Tabel 1. Karakteristik subjek penelitian

Demografi dan Laboratoris	DM Tipe 1 (n=15)	Kontrol (n=15)
Rerata usia (tahun)	12,8 $\pm$ 0,812	9,8 $\pm$ 0,678
<b>Distribusi usia (%):</b>		
5-10 tahun	20 $\pm$ 1,00	73,33 $\pm$ 3,66
11-15 tahun	60 $\pm$ 3,04	26,67 $\pm$ 1,33
>15 tahun	20 $\pm$ 1,00	0
<b>Jenis kelamin:</b>		
Laki-laki	4/15	5/15
Perempuan	11/15	10/15
Rerata lama DM (tahun)	4 $\pm$ 0,378	
<b>Status Gizi:</b>		
Gizi baik	12 (80%)	7 (46,7%)
Gizi kurang	3 (20%)	8 (53,3%)
Rerata dosis insulin (IU/kg/hari)	1,18 $\pm$ 0,07251	-
HbA1C	10,085 $\pm$ 2,28	5,02 $\pm$ 0,18
Hemoglobin (g/dl)	12,307 $\pm$ 0,14	12,61 $\pm$ 0,14
Leukosit (g/dl)	8863,33 $\pm$ 136,92	8098 $\pm$ 266,24
Trombosit (g/dl)	355200 $\pm$ 6131,26	315866,67 $\pm$ 8496,94
Ureum (mg/dl)	25,387 $\pm$ 0,94	24,693 $\pm$ 0,95
Kreatinin (mg/dl)	0,61 $\pm$ 0,036	0,56 $\pm$ 0,03
SGOT (U/L)	30,6 $\pm$ 0,91	2,87 $\pm$ 0,84
SGPT (U/L)	31 $\pm$ 0,58	32,2 $\pm$ 0,87
GAD65+	15(100%)	0(0%)



Gambar 1. Rerata kadar vitamin D pada penderita DM tipe 1 dan kontrol

Rerata kadar vitamin D3 25(OH)D<sub>3</sub> pada penderita DM tipe 1 lebih rendah (22,07±5,53) dibanding kontrol dan semua subjek pada kelompok kontrol memiliki kadar vitamin D yang normal (32,88±1,8ng/ml). Pada penderita DM tipe 1, didapatkan 8 orang mengalami defisiensi vitamin D<sub>3</sub>, 4 orang insufisiensi vitamin D, dan 3 orang normal. Secara deskriptif hasil menunjukkan rerata kadar C-peptida dan T regulator pada penderita DM tipe 1 lebih rendah bermakna dibandingkan kontrol (Gambar 1, Tabel 2).

**Tabel 2. Perbedaan rerata kadar vitamin D, C-peptida, dan Treg, pada penderita DM tipe 1 dan Kontrol**

Parameter	Penderita DM Tipe1	Kelompok Kontrol	p
Rerata kadar vitamin D3 25(OH)D <sub>3</sub>	22,07±5,53	32,88±1,8	p=0,001
Kadar C-peptida	0,3±0,11	3,4±1,11	p=0,000
Kadar Treg	6,86±1,20	37,86 ± 9,61	p=0,000

Berdasar hasil uji korelasi *Pearson* diperoleh kadar vitamin D (25(OH)D<sub>3</sub>) pada anak dengan DM tipe 1 mempunyai korelasi positif yang kuat dan signifikan dengan kadar C-Peptida (p=0,000; r=0,962). Temuan serupa juga didapatkan pada hubungan antara vitamin D dengan kadar T regulator (p=0,000; r=0,881). Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar vitamin D<sub>3</sub> semakin tinggi pula kadar C-peptida dan T regulator pada anak dengan DM tipe 1. Kadar C-Peptida pada anak dengan DM tipe 1 juga mempunyai korelasi positif yang kuat dan signifikan dengan jumlah sel T regulator (p=0,000; r=-0,872).

## DISKUSI

Pada hasil penelitian didapatkan 30 subjek penelitian yang terbagi dalam dua kelompok, yaitu 15 subjek DM tipe 1 dan 15 subjek pada kelompok kontrol. Pada karakteristik data didapatkan rentang usia 6-17 tahun dengan rerata usia 12 tahun. Hal ini sesuai dengan data epidemiologi sebelumnya puncak insiden terjadi pada saat masa pubertas (11). Berdasarkan distribusi jenis kelamin pada penelitian ini didapatkan bahwa anak perempuan lebih banyak. Angka kejadian DM tipe 1 di Indonesia anak perempuan didapatkan 3 kali lebih banyak daripada penderita laki-laki (2).

Rerata dosis insulin yang digunakan pada penelitian ini sebesar 1,18±0,07IU/kg/hari. Berbeda dengan penelitian oleh Dorchy *et al* dengan rerata dosis insulin 1,0±0,3 IU/kg/hari, *The Hvidoere study group* (1,0±0,3) IU/kg/hari, dan Batubara *et al* (0,9±0,2) IU/kg/hari (2). Penyesuaian dosis insulin bertujuan untuk mencapai kontrol metabolik yang optimal, tanpa meningkatkan risiko terjadinya hipoglikemia dan tanpa mengabaikan kualitas hidup penderita baik jangka pendek maupun jangka panjang. Selama periode "honeymoon" total dosis insulin harian <0,5U/kgBB/hari, anak sebelum pubertas (diluar periode "honeymoon") dalam kisaran dosis 0,7-1,0U/kgBB/hari, sedangkan selama pubertas kebutuhan meningkat diatas 1IU sampai dengan 2IU/kgBB/hari (2). Hal ini yang mungkin terjadi pada subjek penelitian ini, dengan rata-rata usia 12 tahun yang merupakan usia pubertas, sehingga diperlukan dosis insulin rata-rata 1,18 IU/kgBB/hari.

Mengingat hubungan antara vitamin D dan DM tipe1 dan kemungkinan peran defisiensi vitamin D dalam patogenesis DM, banyak penelitian mengenai kadar 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D<sub>3</sub>) pada penderita DM tipe 1. Penelitian kami sejalan dengan yang didapatkan dari penelitian *cross sectional* di Belanda oleh Janner pada tahun 2010, 60-84% penderita DMT1 terjadi defisiensi vitamin D (12). Di Qatar menurut hasil penelitian oleh Benner *et al* secara *case control*, 90,6% penderita DM tipe 1 pada anak dibanding 85,3% anak non diabetes dengan defisiensi 25(OH)D<sub>3</sub>. Di India Utara pada penelitian *case control*, 58% penderita DM tipe 1 dan 32% kontrol sehat dengan defisiensi 25(OH)D<sub>3</sub> (13). Penelitian *case control* di Australia, menemukan bahwa kadar serum vitamin D (25(OH)D<sub>3</sub>) pada penderita diabetes mellitus anak dan remaja lebih rendah dibandingkan anak tanpa diabetes (14). Studi *cross sectional* di Amerika, dari 128 penderita DMT1 didapatkan 15% penderita defisiensi 25(OH)D<sub>3</sub>, 61% dengan kadar 25(OH)D<sub>3</sub> yang insufisien, dan 24% sufisien (15).

Pada penelitian ini didapatkan 3 subjek penelitian dengan kadar vitamin D yang normal. Adanya kerentanan genetik sendiri cukup memicu timbulnya DM tipe 1. Beberapa gen yang menekan aktivasi sel T tampaknya memiliki hubungan dengan diabetes autoimun (16). Urutan kejadian yang menjelaskan tentang etiologi DM tipe 1 yakni defek sistem imun yang mendasari munculnya sel T autoreaktif, kerusakan sel β sehingga memulai aktivasi dan ekspansi sel T autoreaktif, dan respon autoimun sebagai penyebab kerusakan sel β (17). Usia penderita yang berhubungan dengan paparan sinar matahari, lamanya terdiagnosis DM tipe 1, pemberian insulin yang adekuat sehingga menghasilkan kontrol glikemik yang baik diduga turut berperan menghasilkan kadar 25(OH)D<sub>3</sub> yang normal.

Kadar vitamin D yang rendah dalam tubuh dapat mempengaruhi sistem imun dengan berbagai cara, pada sel APC, sel Th1, sel Th2, maupun T regulator. Pada tingkat APC, kadar vitamin D yang rendah meningkatkan ekspresi MHC kelas II dan menyebabkan polarisasi ke arah Th1. Defisiensi vitamin D menyebabkan peningkatan sitokin proinflamasi (IL-2, IFN-γ) dan penurunan sitokin antiinflamasi (IL-10) yang dikeluarkan oleh Th2 melalui faktor transkripsi GATA3. Defisiensi vitamin D juga menurunkan produksi sel T regulator serta penurunan IL-10 melalui faktor transkripsi Foxp3. Kondisi ini dapat menyebabkan gagal toleransi dari sel imun, sehingga menyebabkan kerusakan dari sel beta (17).

Terdapat perbedaan yang bermakna pada jumlah sel T regulator pada penderita DM tipe 1 dibanding kontrol (6,866±1,202 vs 37,866±9,612), serta didapatkan hubungan positif bermakna antara kadar vitamin D 25(OH)D<sub>3</sub> dengan jumlah sel T regulator. Hasil penelitian ini sejalan dengan beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya pada tahun 2012 di Mesir, didapatkan penurunan jumlah CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> dengan hasil yang secara statistik bermakna (45,9% vs 95,8%, p=0,000) (18). Luczynsky juga mendapatkan hasil bahwa didapatkan penurunan jumlah sel Tregulator antara penderita dengan DM tipe 1 dibandingkan kontrol, demikian juga Ryba *et al* menunjukkan bahwa sel Tregulator memiliki peranan dalam patogenesis DM tipe 1 (12,13).

Hasil penelitian ini menunjukkan kadar C-Peptida pada

penderita DM tipe 1 lebih rendah bermakna dari kelompok kontrol ( $0,3\pm 0,11952$  vs  $3,4067\pm 1,1016$ ). Hasil juga menunjukkan korelasi positif antara jumlah sel CD4+CD25+Foxp3+T regulator dengan kadar C-peptida dan keeratan hubungan yang sangat kuat ( $p=0,000$ ,  $r=0,872$ ). Temuan ini sejalan dengan penelitian oleh Zahran bahwa kadar C-peptida adalah faktor yang akurat dalam menilai sekresi insulin pada penderita dengan DM tipe 1 (18). Kerusakan sel  $\beta$  pankreas menyebabkan turunnya kadar insulin, demikian juga C-peptida.

Keterbatasan pada penelitian ini adalah penelitian ini merupakan *cross sectional* yang menampilkan data pada suatu waktu sehingga tidak dapat menentukan hubungan sebab akibat. Faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil adalah sulitnya menggali data yang akurat diantaranya

tentang asupan makanan rendah vitamin D, dan lama paparan sinar matahari pada subjek penelitian. Jumlah subjek yang terbatas menyebabkan tidak memungkinkan dilakukan klasifikasi terhadap usia, jenis kelamin dan status gizi sebagai faktor yang juga berperan terhadap terjadinya defisiensi vitamin D.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa kadar vitamin D3, jumlah sel CD4+CD25+Foxp3+T regulator, dan kadar C-peptida pada anak dengan DM tipe 1 lebih rendah dibanding kontrol. Terdapat hubungan antara kadar vitamin D3 dengan jumlah sel CD4+CD25+Foxp3+T regulator, antara kadar vitamin D3 dengan kadar C-peptida dan antara jumlah sel CD4+CD25+Foxp3+T regulator dengan kadar C-peptida pada anak dengan DM tipe 1.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Rajashree R, Ravishankar MV, Kholkute SD, and Goudar SS. *Type 1 Diabetes Mellitus: An Update*. International Journal of Diabetes and Metabolism. 2012;20(3):37-42
- Batubara J, Tridjaja B, Pulungan AB. *Gambaran Diabetes Mellitus Tipe 1*. Sari Pediatri. 2012; 15(6): 57-62.
- Borkar V, Devidayal V, Verma S, and Bhalla K. *Low Levels of Vitamin D in North Indian Children with Newly Diagnosed Type 1 Diabetes*. Pediatric Diabetes. 2010; 11(5): 345–350.
- Bener A, Alsaied M, Al-Ali M, et al. *High Prevalence of Vitamin D Deficiency in Type 1 Diabetes Mellitus and Healthy Children*. Acta Diabetologica. 2009; 46(30): 183–189.
- Janner M, Ballinari P, Mullis PE, and Fluck CE. *High Prevalence of Vitamin D Deficiency in Children and Adolescent with Type 1 Diabetes*. Swiss Medical Weekly. 2010; 140(7): 1-6.
- Johnson JA, Grande JP, Roche PC, and Kumar R. *Immunohistochemical Localization of the 1,25(OH)2D3 Receptor and Calbindin D28k in Human and Rat Pancreas*. American Journal of Physiology. 1994; 267(3): E356-60.
- Maestro B, Molero S, Bajo S, Davila N, Calle C. *Transcriptional Activation of the Human Insulin Receptor Gene by 1,25-Dihydroxyvitamin D(3)*. Cell Biochemistry and Function. 2002; 20(3): 227–232.
- Paschou SA, Tigas S, Naka K, Papadopoulos G, and Satsoulis A. *The Role of T Regulatory Cells (Tregs) in the Development and Prevention of Type 1 Diabetes*. Journal of Clinical & Cellular Immunology. 2012; 2: 234-258.
- Palmer JP, Fleming GA, Greenbaum CJ, et al. *C-peptide is the Appropriate Outcome measure for Type 1 Diabetes Clinical Trials to Preserve Beta-cell Function: Report of an ADA Workshop*. Diabetes. 2001; 53(1): 250-64.
- Hollick MF. *Vitamin D Deficiency*. The New England Journal of Medicine. 2007; 357: 266-281.
- Soltesz G, Patterson CC, Dahlquist G, and EURODIAB Study Group. *Worldwide Childhood Type 1 Diabetes Incidence – What Can We Learn From Epidemiology?* Pediatric Diabetes. 2007; 8(6): 6-14.
- Luczynski W, Stasiak-Barmuta A, Urban R, Urban M, and Florys B, Hryszko M. *Lower Percentages of T Regulatory Cells in Children with Type 1 Diabetes - Preliminary Report*. Pediatric Endocrinology, Diabetes and Metabolism. 2009; 15(1): 34–38
- Ryba M, Hak L, Zorena K, Mysliwiec M, and Mysliwska J. *Regulatory T Lymphocytes Expressing L-Selectin in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Mellitus*. Pediatric Endocrinology, Diabetes and Metabolism. 2010; 16(1): 12–16.
- Greer RM, Portelli SL, Hung BS, et al. *Serum Vitamin D Levels are Lower in Australian Children and Adolescents with Type 1 Diabetes than in Children without Diabetes*. Pediatric Diabetes. 2013; 14(1):31–41.
- Svoren BM, Volkening LK, Wood JR, and Laffel LMB. *Significant Vitamin D Deficiency in Youth with Type 1 Diabetes Mellitus*. Journal of Pediatrics. 2009; 154(1): 132-134.
- Smith D, Cooper JD, Collins JE, et al. *Replication of an Association between the Lymphoid Tyrosine Phosphatase Locus (LYP/PTPN22) with Type 1 Diabetes and Evidence for its Role as a General Autoimmunity Locus*. Diabetes. 2004; 53(11): 3020-2023.
- Mathieu C. *Vitamin D and the Immune System: Getting It Right*. International Bone & Mineral Society BoneKEy. 2011; 8(4): 178-186.
- Zahran AM, Elsayh KI, and Metwalley KA. *Regulatory T Cells in Children with Recently Diagnosed Type 1 Diabetes*. Indian Journal of Endocrinology and Metabolism. 2012; 16(6): 952-957