

Susanna Uotila

VARHAISTEN ANTIBIOOTTIHOITOJEN, SYNNYTYSTAVAN JA IMETYKSEN
VAIKUTUS BEETASOLUAUTOIMMUNITEETIN SEKÄ TYYPIN 1 DIABETEKSEN
KEHITTYYMISEEN

Syventävien opintojen kirjallinen työ

Syyslukukausi 2020

Susanna Uotila

VARHAISTEN ANTIBIOOTTIHOITOJEN, SYNNYTYSTAVAN JA IMETYKSEN
VAIKUTUS BEETASOLUAUTOIMMUNITEETIN SEKÄ TYYPIN 1 DIABETEKSEN
KEHITTYYMISEEN

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu
Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Lastentautioppi, kliininen laitos

Syyslukukausi 2020

Jorma Toppari, Johanna Lempainen

TURUN YLIOPISTO

Lääketieteellinen tiedekunta

UOTILA, SUSANNA: tyypin 1 diabetes

Syventävien opintojen kirjallinen työ, 39 sivua

Lastentautioppi

Marraskuu 2020

Tämän syventävien opintojen projektin aiheena on tyypin 1 diabetes. Tarkoituksena on selvittää varhaisten antibioottihoitojen, synnytystavan sekä ensimmäisten elinkuukausien ravitsemuksen vaikutusta vasta-ainemuodostukseen ja diabeteksen kehittymiseen. Työ on tehty osana suurempaa suomalaista diabetekseen keskittyvää tutkimusta (Diabetes Prediction and Prevention study). Tutkimusmuotona on tapaus-verrokkitutkimus, jossa seurattiin vastasyntyneitä lapsia noin yhdentoista vuoden ajan. Tutkimuksen lähtökohtana on kerryttää tietoa sairauden patogeneesistä taudin ehkäisemiseksi tai hoitamiseksi.

Aineisto koostuu lapsista, joilla on syntymän yhteydessä todettu tyypin 1 diabetekselle altistava perimä, ja joidenka perheet ovat halunneet osallistua diabetestutkimukseen. Verrokeiksi on valittu lapsia, joilla ei seuranta-aikana ole muodostunut vasta-aineita eikä kehittynyt diabetesta. Tutkimusaikana seurataan tietyin väliajoin lasten verestä diabetekseen liittyvää autovasta-ainemuodostusta eli serokonversiota. Serokonversiolla voidaan ennustaa taudin puhkeamisriskiä. Kiinnostuksen kohteena on myös, kuinka monelle autovasta-ainepositiivisista lapsista kehittyy myöhemmin diabetes. Lasten syntymätapa- ja ravitsemustiedot sekä tiedot äidin ja lapsen saamista antibioottihoidoista yhdistetään vasta-ainetietoihin. Log-rank testillä verrataan tapaus- ja verrokkiryhmien eroja vasta-ainemuodostuksessa sekä myöhemmässä sairastumisessa diabetekseen.

Vasta-aineita muodostuu tilastollisesti enemmän niillä lapsilla, joilla äiti, lapsi tai molemmat ovat saaneet antibiootteja, (p-arvo 0,005). Äidin synnytyksenaikaisella antibioottihoidolla ei näyttäisi olevan vaikutusta lapsen serokonvertoitumiseen, (p-arvo 0,13). Tutkimuksessa ei pystytty osoittamaan lasten varhaisten antibioottihoitojen lisäävän vasta-ainemuodostusta haiman saarekkeita vastaan, (p-arvo 0,071). Pelkän rintamaidon saanti ei suojaa diabetekselta verrattuna pelkkään korvikkeeseen tai rintamaidon ja korvikkeen yhdistelmään, (p-arvo 0,073). Alateitse ja keisarileikkauksella syntyneiden lasten vasta-ainemuodostuksessa ja sairastumisessa diabetekseen ei havaittu tilastollisia eroja. Alateitse ja keisarileikkauksella syntyneillä ei ole tutkimuksen mukaan eroa taudin puhkeamisnopeudessa serokonversion jälkeen, (p-arvo 0,12).

Avainsanat: tyypin 1 diabetes, varhaiset antibioottihoidot, synnytystapa, beetasoluautoimmunitetti

SISÄLLYSLUETTELO

1	Johdanto	1
2	Tyypin 1 diabeteksen taudinkuva	2
2.1	Tyypin 1 diabeteksen ilmaantuvuus Suomessa ja maailmalla	4
2.2	Tyypin 1 diabeteksen patogeneesi	5
2.2.1	Genetiikka	5
2.2.2	Epigenetiikka.....	7
2.2.3	Soluvälitteinen immuunivaste	8
2.2.4	Autovasta-aineet	9
2.2.5	Ympäristötekijät	10
2.2.6	Mikrobiomi.....	15
3	Aineisto	18
3.1	DIPP-tutkimus	18
3.2	Aineiston keruu.....	18
3.3	Menetelmät	19
4	Tulokset.....	21
4.1	Synnytystapojen vertailu.....	22
4.2	Antibioottien yhteys diabetekseen	26
4.2.1	Äidin antibioottihoito synnytyksessä.....	26
4.2.2	Vastasyntyneen antibioottihoito	28
4.2.3	Äidin ja lapsen antibioottihoito yhdessä	30
4.3	Varhaisen ravitsemuksen yhteys diabetekseen.....	32
5	Päätelmät	35
	Lähteet.....	37

1 JOHDANTO

Autoimmuunidiabetes on laajasti tutkittu sairaus, jonka tarkat syntymekanismit ovat kuitenkin edelleen epäselvät. Maailman suurin tyypin 1 diabeteksen ilmaantuvuus on Suomessa ja siksi sen tutkimisesta ollaan erityisen kiinnostuneita Suomessa sekä muissa Pohjoismaissa. Suomessa on noin 50 000 tyypin 1 diabetekseen sairastunutta. Tauti on yleisempi länsimaissa kuin kehittyvissä maissa. Länsimaiden suuremmat taudin esiintymisluvut voivat johtua elinympäristöjen muuttumisesta kaupunkimaisemmiksi. Lukuisten ympäristötekijöiden vaikutusta tyypin 1 diabeteksen kehittämisessä on tutkittu laajasti. Muun muassa länsimaisen ruokavalion, liiallisen hygieenisuuden sekä antibioottihoitojen on esitetty liittyvän taudin kehittymiseen. Maailmanlaajuisesti sairauden ilmaantuvuus lisääntyy noin 3–4 % vuodessa. Sairastuvien määrä tulee siis tulevaisuudessa lisääntymään.

Nykyajatuksen mukaan sairauden kehityskaari lähtee etenemään jo lapsen hyvin varhaisessa elämänvaiheessa, äidin kohdun suojassa. Tyypin 1 diabetekselle tiedetään altistavan tietty geeniperimä, mutta ympäristön vaikutusta pidetään merkittävämpänä sairauden kehittämisessä. Oikeanlainen suoliston mikrobiston koostumus varhaisessa lapsuudessa on tärkeää normaalin immunitetin kehittymisen kannalta. Mikrobikolonisaatiossa tapahtuvien poikkeamien ajatellaan muuttavan immuunijärjestelmän puolustussolujen toimintaa ja altistavan taudin kehittymiselle. Lopulta elimistö alkaa reagoimaan väärin insuliinia tuottavia haiman beetasoluja vastaan ja autoimmuunidiabetes kehittyy. Hiljalleen haiman insuliinituotanto tyrehtyy beetasolutuhon edetessä.

Tässä syventävien opintojen työssä kootaan yhteen nykytietämystä tyypin 1 diabeteksestä, sen taudinkuvasta, perinnöllisyydestä ja patogeneesista. Opinnäytetyöhön kuuluu etenevä tapaus-verrokkitutkimus, jonka päämääränä on selvittää varhaisten antibioottihoitojen, ravitsemuksen sekä synnytystavan osuutta tyypin 1 diabeteksen kehityksessä. Tässä opinnäytetyössä jäljempänä esitettävä tutkimus on tehty osana laajempaa suomalaista yliopistosairaaloiden ylläpitämää DIPP-tutkimusta (Diabetes Prediction and Prevention study).

2 TYYPIN 1 DIABETEKSEN TAUDINKUVA

Tyypin 1 diabetes on krooninen autoimmuunisairaus, jossa sytotoksisten T-solujen ajatellaan hyökkäävän haiman beetasoluja vastaan. Haiman beetasolutuho aiheuttaa elimistön oman insuliinituotannon tyrehtymisen. Tautimekanismi on vielä osin selvittämättä. Sairaus puhkeaa yleensä nuoruudessa, ja sairastumisikä on tilastojen mukaan laskenut mahdollisesti elinympäristön muutoksien vuoksi. Insuliininpuute estää solujen glukoosinoton, josta seuraa veren korkea sokeripitoisuus eli hyperglykemia. Pitkäaikainen hoitamaton hyperglykemia johtaa elinten vahingoittumiseen, kuten neuro-, nefro- ja retinopatiaan. Diabeetikoilla on myös suurentunut riski sairastua ateroskleroosiin eli valtimoiden kovettumistautiin sekä sydänsairauksiin. Korjaantumattoman beetasolutuho vuoksi diabetes on elinikäinen sairaus. Sairaus paljastuu usein yllättäen lapsen joutuessa sairaalaan ketoasidoosin vuoksi. Ketoasidoosi kehittyy, kun elimistö on tarpeeksi kauan ilman insuliinia. Ketoasidoosissa elimistöön kertyy ketoaineita, jotka johtavat happamoitumiseen.

Diabeteksen ensioireita ovat väsymys, jano, laihtuminen, virtsamäärien lisääntyminen ja ketoasidoosin aiheuttamat vatsakivut sekä oksentelu. Kun virtsan liuskakokeessa todetaan sokeria, tulee epäillä diabetesta. Tällöin varmistetaan laskimoverinäytteellä, onko elimistö hyperglykemiassa. Hyperglykemian varmistuttua potilas ohjataan lastenlääkärille mahdollisen kuivuman hoitoon. Diabeteksen hoito insuliinilla aloitetaan heti tyypin 1 diabetes diagnoosin varmistuttua nestehoidon yhteydessä. Insuliinipistohoito opetetaan sairaalassa diabeteksen alkuhoidon jälkeen.

Käypä hoito -suosituksen mukaan diabeteksen diagnosikriteereinä pidetään oireisilla potilailla satunnaista verensokeriarvoa $> 11,0$ mmol/l. Oireettomilla diagnosikriteereinä ovat suurentunut paastoarvo $\geq 7,0$ mmol/l tai kahden tunnin sokerirasituskokeessa arvo $> 11,0$ mmol/l. Pitkäaikaisokerin HbA_{1c} arvo $\geq 48,0$ mmol/mol / 6,50 % viittaa pitkään koholla olleeseen verensokeriin. Normaali HbA_{1c} ei poissulje tuoretta tyypin 1 diabetesta, joten sitä ei käytetä diagnostisena kriteerinä, toisinkuin tyypin 2 diabeteksessa. Oireettoman potilaan paasto- tai sokerirasituskokeessa ilmennyt poikkeava arvo on tarkistettava eri päivänä. Diabeteksen esiasteena pidetään verensokerin paastoarvoa 6,1–6,9 mmol/l tai kahden tunnin sokerirasituskokeessa arvoja välillä 7,8–11,0 mmol/l. (Insuliininpuutosdiabetes: Käypä hoito -suositus, 2018)

Diagnoosia pohtiessa anamneesin eli potilaan esitietojen kysyminen on tärkeää. Potilaalta selvitetään oireiden kehittymisnopeus, ikä, mahdollinen laihtuminen sekä sukrasite. Jos potilaalla on jo ehtinyt kehittymään ketoasidoosi, voidaan melko varmasti diagnosoida tyypin 1 diabetes. Tarvittaessa voidaan määrittää C-peptidi, joka kuvaa endogeenista eli elimistön omaa insuliinituotantoa tai GAD-vasta-aine, jonka suurentunut arvo viittaa autoimmuniidiabetekseen. Negatiivinen GAD-vasta-aine ei kuitenkaan poissulje tyypin 1 diabetesta. Lapselta tai nuorelta kannattaa määrittää lisäksi IA2-, sinkkitransportteri-8- ja insuliiniautovasta-aineet. Proteiini- ja vasta-ainemääritykset ovat hitaita, joten ne eivät sovellu akuutissa tilanteessa diagnoosin varmistamiseen. (Insuliininpuutosdiabetes: Käypä hoito -suositus, 2018)

Diabeteksen hoidon tavoitteena on oireettomuus, normaalin pituinen elämä, elinkomplikaatioiden ehkäiseminen sekä mahdollisimman normaali arki sairaudesta huolimatta (Insuliininpuutosdiabetes: Käypä hoito -suositus, 2018). Diabetesta hoidetaan ihonalaiseen rasvakudokseen pistettävällä monipistoshoidolla tai insuliinipumpulla. Hoidossa pyritään matkimaan fysiologista insuliinineritystä. Aamulla ja illalla pistetään perusinsuliinia ja aterioiden yhteydessä ateriainsuliinia. Hoidossa tasapainoillaan sopivan insuliiniannostuksen löytämiseksi; ylikorjaaminen insuliinilla johtaa hypoglykemiaan eli liian alhaiseen verensokeriin. Toisaalta liian vähäinen insuliinin pistäminen altistaa korkeille verensokereille ja pitkäaikaisen sokerin eli sokerihemoglobiinin HbA_{1c} nousulle. Pitkäaikainen kohonnut verensokeri altistaa diabeteksen elinkomplikaatioille. Markkinoille on tullut uusia ultrapitkävaikutteisia insuliineja, jotka pidentävät pistosväliä. Vanhempien diabeetikoiden kokonaisvaltaiseen hoitoon kuuluu verensokeriseurannan lisäksi rasva-aineenvaihdunnan häiriöiden ja verenpainetaudin hoito, jotka altistavat hoitamattomina aivoverenkiertohäiriöille ja sydänsairauksille.

Verensokerin seurantaan on useita välineitä. Perinteinen tapa on sormenpääverinäyte, josta analysoidaan verensokeritaso. Uudempi monitorointitapa on ihonalaiskudossensorin avulla tehtävä glukosiseuranta Free style libre, Dexcom ja Enlite -ohjelmistoilla. Matkapuhelimella luetaan sensorin määrittämä verensokeri. Sensori antaa sen hetkisen verensokerin lisäksi kahdeksan edeltävän tunnin verensokerikäyrän ja ilmaisee verensokerin muutoksen suunnan (Insuliininpuutosdiabetes: Käypä hoito -suositus, 2018). Jatkuvan monitoroinnin etuna on, että sovellus luo tilastoa pitkäaikaisesta verensokerin vaihtelusta. Freestyle Libren ja Dexcomin uutena ominaisuutena on hypoglykemiahälytys, joka suojaa vaaratilanteilta. Potilas voi yhdessä lääkärin kanssa tehostaa diabeteksen hoitoa käyrien antamien tietojen perusteella.

2.1 TYYPIN 1 DIABETEKSEN ILMAANTUVUUS SUOMESSA JA MAAILMALLA

Suomessa tyypin 1 diabeteksen ilmaantuvuus on maailman korkein. Suomessa alle 15-vuotiaiden lasten diabeteksen ilmaantuvuus nousi vuosina 1988–2005 3,6 % vuosivauhtia. Ilmaantuvuuden nousun on epäilty johtuvan osittain Suomessa liikalihavuuden lisääntymisestä nuorena väestössä (Harjutsalo ym. 2013). Vuoden 2005 jälkeen ilmaantuvuuden nousu on hieman tasaantunut, mutta tarkkaa syytä tälle ei tiedetä. Selittävänä tekijänä on epäilty väestön D-vitamiinin saannin parantumisesta vuoden 2003 jälkeen. Vuonna 2003 maitotuotteisiin alettiin lisätä D-vitamiinia. (Harjutsalo ym. 2013). Yllättäen Suomessa vuoden 2003–2018 välisenä aikana alle 7-vuotiaiden lasten diabeteksen ilmaantuvuus laski. Tästä ei voi kuitenkaan vielä päätellä jatkuuko ilmaantuvuuden lasku pienillä lapsilla Suomessa. (Parviainen ym. 2020) Rewersin ym. (2018) TEDDY-tutkimuksen mukaan maailmanlaajuinen ilmaantuvuuden kasvu jatkaa nousuaan 3 – 4 % vuodessa.

Taudin ilmaantuvuus on noussut sekä alttiusgeenien kantajilla että niillä, joilla ei ole sairausriskiä suurentavaa perimää. Tautiin sairastuvista 90 %:lla ei ole suvussa muita diabeetikkoja. Sairastuminen johtuu osittain perimästä, mutta se ei selitä ilmaantuvuuden nopeaa kasvua viimeisten vuosikymmenten aikana, koska geenit eivät näin lyhyessä ajassa muutu. Syytä on siis haettava ympäristötekijöistä sekä perimän ja ympäristötekijöiden yhteisvaikutuksesta eli epigenetiikasta. (Niinistö ym. 2018). Ympäristömme on muuttunut paljon samaan aikaan, kun tauti on yleistynyt. Ympäristössämme mikrobialtistus ja liikunnallisuus on vähäisempää, kun taas ruoka teollistuneempaa.

Suomessa ja muissa Pohjoismaissa on hyvin aktiivista tutkimustoimintaa sairauden patogeneesin selvittämiseksi. Tutkimuksella pyritään kehittämään lääke tai muu ehkäisykeino, jolla sairaus voitaisiin estää. Kehitteillä on esimerkiksi rokotus, jolla pyritään estämään sairauden puhkeaminen. Tähän mennessä parantavaa hoitoa ei ole vielä keksitty, joten sairastuneet joutuvat turvautumaan elinikäiseen insuliinipistoshoitoon.

2.2 TYYPIN 1 DIABETEKSEN PATOGENEESI

Sairauden syntymekanismi on edelleen selvittämättä, mutta siihen tiedetään liittyvän sekä geneettinen perimä että ympäristötekijät. 1950-luvulla alkanut ilmaantuvuuden nopea kasvu viittaa siihen, että elinympäristön muutoksilla on perimää suurempi vaikutus sairauden puhkeamisessa. Altistavina ympäristötekijöinä on tutkittu muun muassa lehmänmaitoa ruokavaliossa, lapsen varhaisia antibioottihoitoja, synnytystapaa sekä virusinfektioita, kuten Coxsackie-, sytomegalo- ja enterovirusta. Näiden lisäksi hygieniahypoteesia on ehdotettu sairauden myötävaikuttajaksi. Hygieniahypoteesin mukaan liian steriili ympäristö ei aktivoi tarpeeksi immuunipuolustusta, jolloin puolustusjärjestelmä reagoi virheellisesti liian voimakkaasti elimistön omia kudoksia vastaan kehittäen autoimmuunitaudin. Diabeteksessa immuunipuolustus hyökkää haiman saarekesoluja vastaan.

2.2.1 GENETIIKKA

Perimässämme on HLA-alue, jonka geenit tuottavat proteiineja, jotka puolustavat elimistöämme taudinaiheuttajia vastaan. Ihmisillä HLA II -alue säätelee vastustuskykyämme taudinaiheuttajia vastaan monella eri tavalla. (Lokki, 2005) HLA II -alue koodaa MHC (major histocompatibility complex) -proteiinia. MHC esittelee CD4⁺- ja CD8⁺- eli auttaja- ja tappaja T-soluille vieraiden patogeeneiden eli taudinaiheuttajien antigeeneja, jolloin immuunireaktio käynnistyy. Antigeenit ovat molekyyliä, jotka aiheuttavat elimistössä immuunivasteen. Yleensä ne ovat mikrobien pinnalla olevia proteiineja tai hiilihydraatteja. Autoimmuunitaudeissa immuunipuolustus tulkitsee elimistön rakenteita haitallisiksi antigeeneiksi. Tyypin 1 diabeteksessa MHC esittelee virheellisesti haiman saarekkeiden insuliinia tuottavien beetasolujen rakenteita CD4⁺- ja CD8⁺-soluille. Antigeeniesittelyä seuraa immuunipuolustuksen B-solujen aktivoituminen vasta-aineita tuottaviksi plasmasoluiksi. Myös aktiiviset B-solut esittelevät antigeeneja CD4⁺- ja CD8⁺-soluille. Vasta-aineet ovat merkki käynnissä olevasta immuunireaktiosta, mutta ne eivät ole merkittäviä beetasolutuhoissa (Ilonen ym. 2019). CD8⁺-solut tuhoavat beetasoluja suoraan. CD4⁺-solut tuhoavat beetasoluja välillisesti sytokiineilla, muun muassa tehostamalla CD8⁺-solujen toimintaa sekä aktivoimalla makrofageja. (Martinov & Fife, 2020). Immuunireaktion jatkuessa, seuraa lopulta pysyvä haiman saarekesolujen tuho.

Ihmisen genomien immuunipuolustukseen liittyvällä HLA II -alueen eri geenimuodoilla on todettu olevan vaikutusta tyypin 1 diabeteksen kehittymisessä. Osa haplotyypeistä muodostaa suuremman sairastumisriskin lapselle. Haplotyyppi on kromosomissa toisiinsa läheisesti liittyvien alleelien kokonaisuus, joka periytyy toiselta vanhemmalta. Alleelit ovat saman geenin eri muotoja, jotka aiheuttavat yksilöille erilaisen ulkoasun. Yleensä nämä geenimuodot periytyvät sukupolvelta toiselle muuttumattomana. HLA-alueen haplotyyppit vaikuttavat siihen, miten MHC-proteiinit sitoutuvat peptideihin ja mitä epitooppeja esitellään CD4⁺-soluille (Ilonen ym. 2019).

Eri haplotyyppien vaikutuksesta syntyy yksilöissä erilaisia immuunireaktioita. Tärkeimmät HLA-alueet genomissa ovat HLA-DR ja HLA-DQ. On haplotyyppejä, jotka suojaavat diabetekselta. HLA-DR3 ja HLA-DR4 ovat haplotyyppejä, jotka altistavat suurimmalle sairastumisriskille (Coppieters ym. 2012). Näiden eri vanhemmilta perittyjen haplotyyppien yhdistelmä, ympäristövaikutukset sekä epigenetiikka yhdessä muodostavat sairastumisriskin. Tyypin 1 diabeteksen periytyvyydestä 50 % selittyy HLA II -alueen geeneillä (Niinistö ym. 2018).

Koko genomien kattavilla tutkimuksilla on myös havaittu HLA-alueen ulkopuolisia geenejä, joita on yhdistetty diabeteksen patogeneesiin. Tällaisia geenialueita on löydetty yli 50. INS, PTPN22, IL2RA, CTLA4 sekä monet muut ovat tällaisia geenialueita (Lee & Hwang, 2019). Nämä geenit liittyvät immuunipuolustuksen ja beetasolujen toiminnan säätelyyn, apoptoosiin, inflammatioon ja siten myös diabetekseen liittyvään autoimmuunireaktioon. Näiden geenien lukua ohjaavissa alueissa esiintyy polymorfismia eli erilaisia ilmenemismuotoja. Polymorfismia väestössä aiheuttavat esimerkiksi SNP:t (single nucleotide polymorphism). Yhden emäksen muutokset eli SNP:t ovat mutaatioita, jotka voivat vaikuttaa kyseisen geenin luentaan. Mutaatio voi heikentää tai voimistaa geenin luenta ja siitä syntyvän proteiinin määrää elimistössä. Tällaisilla muutoksilla voi olla vaikutusta myös haiman toimintaan. Non-HLA-alueen polymorfismien merkitystä ei vielä tunneta tarpeeksi hyvin diabeteksen patogeneesissä, mutta niiden oletetaan olevan melko vähäisiä (Blanter ym. 2019).

2.2.2 EPIGENETIIKKA

Epigeneettisillä tekijöillä on periytyvien haplotyyppien lisäksi merkitystä autoimmuunisairauksien kehittymisessä. Epigenetiikka osallistuu geneettisen informaation välitykseen sukupolvesta toiseen muokkaamalla DNA-ketjun pakkautumista. Se on melko uusi alue sairauksien ja periytymisen tutkimuksessa. Perimän vaikutus ei siis riipu pelkästään DNA:n emäsjosteesta, vaan myös esimerkiksi kromatiininauhan pakkautumisesta. Mitä tiiviimpiin kromatiininauha pakataan, sitä vähemmän sen sisältämää emäskoodia pystytään lukemaan ja hyödyntämään transkriptiossa. Transkriptiossa DNA:n emäsjoste kopioidaan RNA:ksi, josta rakennetaan geenin ohjeen mukainen proteiini. Epigenetiikka vaikuttaa geenien luentaan muun muassa histonien muokkauksen, mikro-RNA:n sekä DNA:n metylaation välityksellä (Dang ym. 2013). Ympäristötekijät vaikuttavat geenien luennan aktiivisuuteen ja täten muokkaavat geeniperimästä muotoutuvaa fenotyyppiä eli yksilön ilmiä. Genotyypin DR3/DR4 -kantajat ovat suurimmassa sairastumisriskissä perimän suhteen, mutta heistä valtaosa ei kuitenkaan diabetekseen sairastu (Dang ym. 2013). Tämä tukee ajatusta siitä, että ympäristöllä ja epigenetiikalla on suuri merkitys taudin kehityksessä.

Jo kohdussa äidin homeostaasilla on vaikutusta sikiön geenien ilmentymiseen. Vilkkainten genomien ilmentymistä epigeneettisesti säädelään kahteen ikävuoteen asti (Indrio ym. 2017). Epigeneettiset muutokset voivat ohjata immuunipuolustuksen kehittymistä diabetekselle suotuisaksi. Kromatiinirihman pakkautuminen periytyy mitoosissa ja meioosissa solusta toiseen. Epigenetiikka on elimistössä tarkasti säädeltyä. Poikkeamat normaalista säätelystä voivat muokata immuunipuolustuksen solujen toimintaa ja näin altistaa autoimmuunisairauksien kehittymiselle. Epigeneettiset tekijät voivat mahdollisesti rikkoa elimistön omien rakenteiden tunnistamiskykyä eli toleranssia, aiheuttaen immuunireaktion omia kudoksia vastaan. Histonien muokkausta voidaan mahdollisesti tulevaisuudessa hyödyntää autoimmuunisairauksien biomarkkereina. (Araki & Mimura, 2017)

2.2.3 SOLUVÄLITTEINEN IMMUUNIVASTE

Jotta voisimme kehittää parantavan hoidon tyypin 1 diabetekseen tai parhaimmillaan estää taudin puhkeamisen, täytyy ymmärtää monimutkaiset taudin kehitykseen liittyvät soluvälitteisen immuunivasteen muutokset. Soluvälitteinen immunitetti on monimutkainen eri puolustussolujen kokonaisuus, jossa solut viestivät toistensa kanssa ja säätelevät toistensa toimintaa. Lopputuloksena on esimerkiksi viruksen infektoiman solun apoptoosi eli ohjelmoitu solukuolema tai autoimmuunitaudeissa puolustusjärjestelmän virheellinen reaktio tuhota normaaleja elimistön soluja.

Diabeteksessa B-solut ja CD4⁺-solut tunnistavat haiman normaaleja rakenteita haitallisiksi ja käynnistävät immuunireaktion niitä vastaan. Imusolmukkeiden itukeskuksissa B-solut esittelevät CD4⁺-soluille haiman rakenteita antigeeneina. Antigeniesittelyn jälkeen CD4⁺-solut erittävät sytokiineja, jotka aikaansaavat B-solujen kehittymisen muistisoluiksi tai vasta-aineita tuottaviksi plasmasoluiksi. Martinovin ja Fifen (2020) mukaan CD4⁺-solut tunnistavat virheellisesti beetasolujen rakenteita, tuottavat sytokiineja, jotka edesauttavat B-solujen ja CD8⁺-solujen toimintaa. CD4⁺-soluja pidetään välttämättömänä taudin kehityksessä. Haiman rakenteita vastaan reagoineet CD4⁺-solut tuottavat beetasolutuhoa edesauttavia sytokiineja, kuten interferoni-gammaa (IFN- γ) ja tuumorinekroosi-alfaa (TNF- α) sekä aktivoivat edelleen makrofageja tuottamaan lisää haiman tuhoa aiheuttavia sytokiineja. B-solut ja dendriittisolut esittelevät CD8⁺-soluille autoantigeeneja MHC I-välitteisesti. CD8⁺-solut tunnistavat haimassa insuliinin, GAD65:n ja IA2:n rakenteita (Ilonen, ym. 2019). CD8⁺-solut tuhoavat suoraan haiman beetasoluja tekemällä reiän solukalvoon (Martinov & Fife, 2020). Beetasolut ajautuvat apoptoosiin eli tuhoutuvat. Diabeetikoiden veressä ja haimabiopsioissa on haiman saarekkeille spesifejä autoreaktiivisia CD4⁺- ja CD8⁺-soluja, joita ei terveillä verrokeilla havaita.

2.2.4 AUTOVASTA-AINEET

Diabetekseen sairastumista voidaan ennakoida tutkimalla beetasoluautovasta-aineita verestä. Usein jo ennen sairauden puhkeamista voidaan mitata suurentuneita vasta-ainepitoisuuksia haimapeptidejä vastaan. Veressä voidaan todeta insuliini (IAA), glutamyylidekarboksylaasi (GAD), insulinoomaan assosioituvan proteiinin 2 (IA2) ja sinkkitransportterin ZnT8 vasta-aineita jo huomattavasti ennen sairauden puhkeamista (Hänninen ym. 2017). Ensimmäisinä autovasta-aineina ilmaantuvat yleensä IAA tai GADA (Rewers ym. 2018). Useamman autovasta-aineen ilmaantuminen viittaa suurempaan riskiin sairastua tyypin 1 diabetekseen (Hänninen ym. 2017). Autovasta-aineita voi ilmaantua eri järjestyksissä ja pohditaankin, voisiko olla kyse eri tavalla kehittyvistä tautimuodoista. Serokonvertoituminen voi tapahtua lapsuudessa missä iässä tahansa, mutta se on tyypillisimmillään 6–24 kk iässä (Giannopoulou ym. 2015). Serokonversiolla tarkoitetaan hetkeä, kun seerumiin ilmestyy ensimmäisen kerran autovasta-aineita haiman rakenteita vastaan.

Saksalaisessa syntymäkohorttitutkimuksessa (Giannopoulou ym. 2015) seurattiin vasta-ainemuodostusta ja serokonversion jälkeisiä kliinisiä seurauksia. Fenotyypit, jotka vahvinten yhdistyivät diabeteksen kehittymiseen, olivat insuliinivasta-aineella (IAA) alkava muoto, jota seurasi myöhemmin useamman autovasta-aineen kehittyminen sekä muoto, jossa serokonversiossa havaittiin heti useampi autovasta-aine. 10 vuoden seuranta-aikana niistä lapsista, joilla oli useampi kuin yksi autovasta-aine, yli 50 % sairastui diabetekseen. Vastaavasti lapsilla, joilla kehittyi pysyvästi joko insuliini tai GAD autovasta-aineita, ilmeni 44 %:lle diabetes seuranta-aikana. (Giannopoulou ym. 2015)

Tietyt genotyypit vaikuttavat siihen missä järjestyksessä ja iässä vasta-aineita muodostuu. Lampasonan ja Liberatin (2016) mukaan IAA:n ja IA2:n on havaittu liittyvän HLA-DR4-DQ8 genotyyppiin, kun taas GADA liittyy HLA-DR3-DQ2:een. Saksalaisten tutkimuksessa genotyypin HLA-DR4-DQ8 omaavat lapset, joille kehittyi ensimmäisenä pelkästään IAA vasta-aine, serokonvertoitumispiikki oli keskimäärin 9 kk iässä. Homotsygoottinen HLA-DR3 yhdistyi GADA:lla alkavaan serokonversioon. Tässä genotyypissä korkein ilmaantuvuus GADA:lle oli kahden vuoden iässä. Muissa genotyypeissä GADA:n ilmeneminen tapahtui keskimäärin myöhemmin, vasta kahden vuoden iästä eteenpäin. Serokonvertoituminen useammalla vasta-aineella tapahtui yleisimmin kahden vuoden iässä. (Giannopoulou ym. 2015)

2.2.5 YMPÄRISTÖTEKIJÄT

Ravitsemuksen vaikutusta haiman saarekkeiden autovasta-ainemuodostukseen ja tyypin 1 diabetekseen on tutkittu laajasti. Tutkimustulokset ovat olleet osittain vastakkaisia, joten pitävää näyttöä ei monenkaan ruoka-aineen vaikutuksesta ole. On olemassa tutkimustuloksia, jotka puoltavat on runsaan lehmänmaidon kulutuksen yhteyttä sairastumisriskiin (Niinistö ym. 2018). Toisaalta kansainvälisessä diabeteksen ennaltaehkäisyyn keskittyvässä TRIGR-tutkimuksessa ei havaittu lehmänmaidon käytön varhaislapsuudessa lisäävän diabetesriskiä geneettisesti alttiilla lapsilla. Tutkimustulosta ei voida yleistää koskemaan kaikkia lapsia, vaan ainoastaan geneettisesti alttiita. (Knip ym. 2018)

Varhaisvaiheen maitokorvikkeiden käyttö on kiinnostuksen kohteena diabetestutkimuksessa, koska niiden sisältämää lehmänmaidon insuliinia on pidetty mahdollisena tyypin 1 diabetekselle altistavana tekijänä. Merkittävämpänä pidetään lehmänmaidon runsasta juontia, kuin sitä minkä ikäisenä sen käyttö on aloitettu (Niinistö ym. 2018). Imetystä on pidetty tärkeänä lapsen ensimmäisinä elinkuukausina, koska äidinmaidon on aikaisempien tutkimusten perusteella ajateltu suojaavan diabetekselta. Äidinmaidon koostumuksen ja maidonsaannin runsautta on pidetty tärkeämpänä tekijä, kuin imetyksen kesto. Niinistön, ym. (2018) artikkelin mukaan tutkimuksissa on havaittu äidinmaidon määrän ja lapsen veressä olevan äidinmaidosta peräisin olevien rasvahappojen pitoisuuden suojaavan taudin esiasteelta, jossa ensimmäisenä autovasta-aineena muodostuu insuliinivasta-aine (IAA). Niinistön, ym. (2018) artikkelissa myös todetaan, että äidin runsas lihan ja prosessoitujen lihavalmisteen kulutus imetyksen aikana olivat yhteydessä suurempaan taudin riskiin lapsilla. Kalarasvojen eli omega-3-rasvahappojen taas arvioidaan suojaavan taudin esiasteelta. Kalan rasvahapot säätelevät immuunipuolustuksen ja geenien toimintaa.

Lisäruokien aloittamisen ajankohdasta ruokavaliassa vauvoilla on vaihtelevaa näyttöä. Lisäruoilla tarkoitetaan ensimmäisiä ruoka-aineita, joita aletaan äidinmaidon lisäksi syöttämään lapselle. Lisäruokia ovat esimerkiksi juurekset, soseet ja viljat. Lisäruoat aloitetaan äidinmaidon rinnalle lapsen ollessa neljän kuukauden ikäinen. Liian varhain aloitetuilla lisäruoilla (alle 4 kuukauden ikäisenä), on epäilty aiheutuvan negatiivisia immuunireaktioita lapsen kehittyvässä suolistossa. (Niinistö ym. 2018)

5000 suomalaislapsen seurantatutkimuksessa havaittiin geneettisesti alttiiden lapsien runsaan viljan syönnin altistavan tyypin 1 diabeteksen esiasteen muodostumiselle. Viljojen saanti ei ollut yhteydessä diabetekseen sairastumiseen vaan ainoastaan vasta-ainemuodostukseen. Tutkimuksen mukaan runsas kauran, gluteiinia sisältävien viljojen, gluteiinin ja

ravitsemuksesta saatavan kuidun saanti oli yhteydessä saarekesoluvasta-ainemuodostukseen. Tilastollista yhteyttä ei kuitenkaan diabetekseen sairastumisen kanssa ollut. (Hakola ym. 2019)

Virusinfektioiden yhteyttä tyypin 1 diabeteksen patogeneesiin on tutkittu laajasti. Selkeitä syy-yhteyksiä ei ole kuitenkaan pystytty osoittamaan. Hypoteesina on, että virukset infektoisivat haiman insuliinia tuottavat beetasolut ja aiheuttaisivat hiljalleen niiden tuhon. Virusten on myös ajateltu muuttavan immuunipuolustuksen toimintaa. Infektioiden on ajateltu mahdollisesti nopeuttavan kliinisen taudin kehittymistä, kun infektio lisää insuliinin tarvetta elimistössä. Kyseessä on niin sanottu ”overload hypothesis”, jonka mukaan beetasolujen voimakas pitkäaikainen kuormitus, muun muassa infektiot, metabolian muutokset sekä sytokiinit aiheuttaisivat herkistymistä immuunipuolustuksen vaikutuksille ja kiihdyttäisivät solukuolemaa. (Ilonen ym. 2019).

Enterovirusia on pidetty todennäköisimpänä diabeteksen patogeneesissä mukana olevina viruksina. Epidemiologisten tutkimusten mukaan tyypin 1 diabeetikoilla on enemmän enterovirusinfektioita kuin terveillä ihmisillä. Diabeetikoiden haimoista on myös löydetty merkkejä enterovirusista. (Hyöty 2016) Enterovirusten ajatellaan infektoivan haiman saarekkeiden beetasoluja ja ne henkilöt, joilla virusta ei saada häädettyä elimistöstä kehittyvät krooninen immuunireaktio. Aluksi synnynnäinen immuunipuolustus reagoi viruksen tuottamia proteiineja ja RNA:ta kohtaan. Hiljalleen kehittyvät inflammaatiota ja autoimmuunireaktio. Enterovirukset siis aiheuttavat haimatulehduksen. Epidemiologisissa tutkimuksissa on myös kiinnitetty huomiota siihen, että enterovirusinfektiot ja diabetekseen sairastuminen esiintyvät samoina vuodenaikoina. (Hyöty 2016). Uusien enterovirusinfektioiden esiintymispiikki on loppukesällä ja syksyllä (Ilonen, ym. 2019).

Enterovirusryhmään kuuluu noin sata erilaista virusta ja pohdittu onkin, mikä virus tarkalleen liittyy haiman tulehtumiseen. DIPP:n tutkittavien seerumi- ja ulostenäytteistä tehdyissä virusgenomitutkimuksissa virustyyppiksi on osoittautunut *Coxsackie B* -virus. (Hyöty 2016) *Coxsackie B*:n yhteydestä haiman pitkäaikaiseen tulehdukseen on näyttöä muissakin tutkimuksissa. TEDDY:n tapaus-verrokkitutkimuksessa vertailtiin lasten ulostenäytteiden viruskantoja ja niiden yhteyttä serokonversioon ja diabeteksen kehittymiseen. Tapausryhmän lapsilla, joilla todettiin ulostenäytteissä pitkän aikaa *Enterovirus-B*:tä, tarkemmin *Coxsackie B* -virusta, tapahtui serokonvertoitumista enemmän kuin verrokkilapsilla. Diabeteksen kehittymisen kanssa tällä ei havaittu yhteyttä. (Vehik ym. 2019)

On epätodennäköistä, että vihurirokko liittyisi tyypin 1 diabeteksen kehitykseen, koska sairastumiset eivät ole vähentyneet rokotusten alkamisen jälkeen (Hyöty 2016). Vuonna 1982 Suomessa rokotusohjelmaan lisättiin MPR-rokote, joka suojaa vihuri- ja tuhkarokolta sekä sikotaudilta. Diabeteksen ilmaantuvuus Suomessa lähti nousuun vuonna 1986 rokotusten alkamisen jälkeen.

Sytomegalovirus (CMV) on herpesryhmään kuuluva virus. Se on yleinen ihmisten kantama virus. Infektoituessaan ihminen jää usein oireettomaksi kantajaksi. Virus piiloutuu solujen sisään. Usein infektoituminen tapahtuu jo lapsuudessa. Pienillä lapsilla tarttuminen tapahtuu yleensä rintamaidon tai äidin genitaalialueen eritteiden välityksellä. CMV on yksi niistä viruksista, jonka on pitkään esitetty liittyvän tyypin 1 diabeteksen patogeneesiin. Kaikissa tutkimuksissa yhteyttä ei ole kuitenkaan pystytty osoittamaan. DIPP-tutkimuksessa ei havaittu tilastollista eroa autovasta-ainepositiivisilla ja kontrolliryhmällä immunoglobuliini G:n määrässä eli sairastettuja infektioita oli yhtä paljon molemmissa ryhmissä. CMV infektiolla ei havaittu yhteyttä serokonversioon eikä diabeteksen kehittymiseen. (Aarnisalo ym. 2008) Toisaalta TEDDY-tutkimuksessa todettiin assosiaatio pitkittyneen *Coxsackie B:n* ja serokonversion välillä (Vehik ym. 2019).

Virusten tiedetään liittyvän tyypin 1 diabeteksen taudinkulkuun, mutta tarkkaa mekanismia ei vielä tunneta. Eräs hypoteesi on ristireaktio (molecular mimicry), jonka mukaan elimistöön joutuneen viruksen epitooppi muistuttaisi haiman saarekesolujen rakenteita (Hyöty 2016). Epitooppi on antigeenin osa, jonka immuunipuolustus tunnistaa. Immuunipuolustus siis tulkitseisi elimistön omia rakenteita viruksen antigeeniksi. Useiden virusten sekvensseissä on havaittu samankaltaisuuksia haiman rakenteiden kanssa. Ajatusta ristireaktiosta tukee enteroviruksen ja IA2 (islet antigen tyrosine phosphatase) -sekvenssien samankaltaisuus. Myös rotaviruksen on havaittu edistävän autoimmunitettia tiettyjä haiman saarekkeiden antigeeneja kohtaan. (Coppieters ym. 2012). Ristireaktiohypoteesi ei kuitenkaan riitä selittämään diabeteksen patogeneesiä.

On epäselvää, missä ajankohdassa sairauden patogeenisissä viruksilla on suurin merkitys. Tutkimuksissa on pyritty selvittämään, liittyvätkö virukset aivan taudin alkuvaiheeseen autovasta-aineiden muodostumisen vauhdittajina. Toisen näkökulman mukaan virukset olisivat merkittävämpiä myöhemmin serokonversion jälkeen, kun tauti ilmenee kliinisesti. Eläinmallien perusteella näyttäisi siltä, että virusten vaikutus kohdistuisi enemmän taudin progressioon myöhemmässä vaiheessa autoimmunitetin muodostumisen jälkeen (Coppieiers ym. 2012).

Tutkimuksissa on ristiriitaista näyttöä D-vitamiinipitoisuuden ja diabetekseen sairastumisen yhteydestä. Myös DIPP-tutkimuksessa on aikaisemmin tutkittu näiden yhteyttä. Tutkimuksessa oli 126 diabeetikkolasta ja terveitä vasta-aineita muodostamattomia kontrollilapsia. Tutkimuksessa selvitettiin, esiintyikö ryhmien välillä eroja seerumin D-vitamiinipitoisuuksissa. Seuranta aloitettiin lasten ollessa yli kolmen kuukauden ikäisiä. D-vitamiinipitoisuudet olivat ryhmässä samankaltaiset, eikä niissä ilmennyt eroja myöskään serokonvertoitumisaikana eikä sairauden puhjetessa. Päätelmä oli, että D-vitamiinipitoisuus ei ollut yhteydessä serokonversioon eikä diabetekseen sairastumiseen myöhemmässä iässä (Mäkinen ym. 2016). DIPP teki myöhemmin vastaavan tutkimuksen, mutta siinä tutkittiin D-vitamiinipitoisuutta vastasyntyneiden napaverestä. Tulos oli vastaavanlainen kuin aikaisemmassakin vuoden 2016 tutkimuksessa. (Mäkinen ym. 2019)

Päinvastainen tulos oli Lancetissa vuonna 2001 julkaistussa suomalaisjohtoisessa tutkimuksessa, jossa seurattiin 10 336 lapsen D-vitamiinin saantia ensimmäisen elinvuoden aikana ja pitoisuuksien yhteyttä diabetekseen. Ryhmässä, jossa annettiin D-vitamiinilisää, tyypin 1 diabetekseen sairastuneiden määrä oli vähäisempi. Tuloksen merkittävyyttä heikentää se, ettei lapsilta mitattu seerumista D-vitamiinipitoisuuksia (Hyppönen ym. 2001) Myös TEDDY-tutkimuksessa havaittiin, että riittävä D-vitamiinin saanti oli yhteydessä pienentyneeseen haiman saarekesolujen autovasta-ainemuodostuksen riskiin, mutta vain yhdessä alaryhmässä (Rewers ym. 2018).

Antibioottien on aikaisemmissa tutkimuksissa todettu vaikuttavan suoliston mikrobiston flooran muutoksien kautta lapsen immuniteetin kehittymiseen. Antibiootit muuttavat antigeenejä esittelevien solujen (antigen presenting cells, APC) toimintaa, jotka ovat merkittäviä immuunireaktion synnyssä. APC-solut kuuluvat synnynnäiseen ja hankittuun immuunijärjestelmään. Ne ottavat proteiiniantigeenin sisäänsä, pilkkovat sen palasiksi ja esittelevät sen T-soluille MHC-proteiiniin liittyneenä. Makrofagit, dendriittisolut ja B-solut ovat antigeenejä esitteleviä soluja. Eräät antibiooteista hillitsevät ja toiset kiihdyttävät APC-solujen autoantigeenien esittelyä CD4⁺-soluille (Hu ym. 2016).

Osoituksena antibioottien vaikutuksesta autoimmuunitaudin kehittymisessä voidaan pitää Hun ym. (2016) tutkimusta. Tutkimusryhmän NOD-hiiritutkimuksessa (Non obese diabetic mouse model) todettiin hiiriemioille ennen synnytystä annettujen vankomysiini- ja neomysiinihoitojen vaikuttavan tyypin 1 diabeteksen kehittymiseen jälkeläisissä. Vankomysiini kiihdytti diabeteksen kehittymistä, kun taas neomysiini suojasi taudilta. Vankomysiini lisäsi suolen seinämän permeabiliteettia, mikä voi altistaa sairauden kehittymiselle. Äidin synnytyksen aikaisen antibioottihoidon on tutkimuksessa osoitettu muuttavan äidinmaidon mikrobikoostumusta (Hermansson ym. 2019). Muuttunut rintamaito voi vaikuttaa myös vastasyntyneen suoliston mikrobiston kehittymiseen diabetekselle suotuisasti.

2.2.6 MIKROBIOMI

Indrion ym. (2017) mukaan suoliston mikrobikolonisaatio alkaa sikiössä jo ennen syntymää. Kolonisaatiolla tarkoitetaan mikrobin lisääntymistä suolistossa osana normaaliflooraa ilman taudin aiheutumista. Jo kohdussa lapsiveden mikrobisto, istukan läpi kulkevat aineet sekä äidin suolen flora muovaavat kehittyvän lapsen suoliston mikrobiston koostumusta. Häiriöt lapsen suoliston mikrobiomissa voivat olla pitkäaikaisia tai jopa pysyviä, ja voivat kehittää patogeneettisesti sopivan ympäristön tautien kehittymiselle. Epigeneettisesti synnytystapa, ravitsemus, ihokontakti sekä suolistomikrobiston häiriöt voivat olla osana polkua, joka johtaa myöhemmin sairauksien kehittymiseen, kuten diabetekseen. Normaalisti toimiva suolen immuunipuolustus oppii erottamaan harmittomat ja haitalliset bakteerit toisistaan. Puolustusjärjestelmä oppii myös toleroimaan omia kudoksia, eikä aiheuta haitallista autoimmuunireaktiota niitä vastaan.

Nykyään tiedetään, ettei kohtu ole steriili paikka, vaan sisältää äidin suolesta siirtyviä bakteereja. Raskauden aikana äidin suoliston mikrobiston häiriintyminen, muun muassa antibioottihoitojen takia, voi heikentää hyödyllisen mikrobiflooran kulkeutumista istukan kautta lapsiveteen (Walker 2017). Myös lapsen varhaiset antibioottihoidot häiritsevät suoliston mikrobikolonisaatiota sekä suolistotasapainon muodostumista. Epidemiologisissa tutkimuksissa on havaittu yhteys nuoruuden astman ja ensimmäisen elinvuoden aikana saatujen antibioottikuurien välillä (Walker 2017). Suoliston mikrobistolla on yhteys immuunipuolustuksen kehitykseen lapsen varhaisessa vaiheessa. Dysbioosilla eli suoliston tasapainon häiriintymisellä on todettu yhteys tautien kehittymiseen. Ympäristön muutokset voivat herkästi keikauttaa tämän tasapainon, suoliston ja immuunipuolustuksen välillä, johtaen myöhemmin ilmeneviin autoimmuunitauteihin, kuten diabetekseen ja suolistosairauksiin.

Alatiesynnytyksessä lapseen tarttuu äidin synnytyskanavan ja suoliston bakteeristoa. Sektiossa samanlaista kolonisaatiota ei pääse muodostumaan, joten alateitse ja sektioilla syntyneillä lapsilla muodostuukin erilainen suoliston mikrobiprofiili. Alateitse syntyneillä suoliston mikrobisto on lajistoltaan monimuotoisempi kuin keisarileikkauksella syntyneillä. Erot mikrobiprofiilissa kuitenkin tasoittuvat ajan kuluessa. Keisarileikkauksella syntyneillä bakteeristoon kuuluvat muun muassa *Citrobacter freundii*, clostridiumit, enterobakteerit, enterokokit sekä *Staphylococcus aureus*. Osa näistä bakteereista ovat sairaalaympäristöön sopeutuneita ja voivat olla antibiooteille resistenttejä. (Gülden 2018)

Syntymän jälkeen suolisto alkaa muovautumaan imetyksen alkaessa. Vastasyntyneillä suoliston myönteinen kehitys vaatii ravintona ainoastaan rintamaitoa 4–6 kuukauden ikään asti. Rintamaito sisältää useita suoliston kehitystä tukevia tekijöitä sekä liukenemattomia oligosakkarideja, jotka fermentoidaan suolessa lyhytketjuisiksi rasvahapoiksi, kuten butyraatiksi ja asetaatiksi. Korviketta saavilla lapsilla suolisto kypsyy nopeammin, suolesta puuttuvat ensimmäiset bakteerit, eli pioneerilajit, joita tarvitaan suotuisaan suolen seinämän ja immuunipuolustuksen kehitykseen. Rintaruokituilla on enemmän bifidobakteereja sekä laktobasillia, kun taas korvikeruokituilla enterokokkeja ja enterobakteereja. (Walker 2017). Synnytyksessä saadun antibiootin ja synnytystavan tiedetään muuttavan rintamaidon koostumusta, mikä voi olla merkittävää suoliston kehitykselle (Hermansson ym. 2019).

Kohdussa kasvamisen sekä imeväisenä pelkän maitopohjaisen ravitsemuksen saannin jälkeen seuraa kolmas vaihe, joka on tärkeä suoliston kehitykselle. Kolmas mikrobistoa muovaava vaihe on kiinteisiin ruokiin siirtyminen lapsen ollessa 4–6 kuukauden ikäinen. Mikrobisto muuttuu huomattavasti, kun siirrytään pelkästä maidosta viljojen, hedelmien, vihannesten ja lihan syöntiin. Suolisto reagoi vielä tässä vaiheessa herkästi ympäristön muutoksiin. Kolmen vuoden iästä eteenpäin suoliston mikrobisto on jo niin vakiintunut lajistoltaan, että siinä ei tapahdu enää yhtä suuria muutoksia kuin kehityskaaren alussa. Muutokset suoliston tasapainossa ovat jatkossa yleensä enää ohimeneviä. (Gülden, 2018) Kolmen vuoden iässä mikrobiomin kehitys vastaa jo melko lailla aikuisen suoliston lajistoa.

TEDDY-tutkimuksessa on haluttu tutkia tarkemmin lapsen suoliston kehittyvää mikrobistoa. TEDDYssä osoitettiin, että suoliston kehitys on kolmivaiheinen. Tässä kohortissa kehitysvaihe kesti syntymän jälkeen kuukaudet 3-14, siirtymävaihe kuukaudet 15-30, stabiili vaihe kuukaudet 31-46. Rintamaidon osoitettiin olevan merkittävin suoliston kehitykseen vaikuttava tekijä. Täysimetyksen lisäksi myös osittainen imetys oli merkityksellistä. Syntymätapa, maantieteellinen sijainti, sisarukset sekä karvaiset kotieläimet vaikuttivat mikrobiston kehitykseen. Syntymätapa vaikutti etenkin kehitysvaiheessa. Alateitse syntyneillä oli kehitysvaiheessa enemmän *Bakteroides* -bakteereja. Bakteroidit olivat yhteydessä monipuolisempaan bakteerilajistoon sekä nopeampaan suoliston kypsymiseen riippumatta syntymätavasta. Lapsilla, joilla imetyksestä siirryttiin suoraan kiinteisiin ruokiin mikrobiston kehitys eteni nopeammin kuin niillä, jotka saivat rinnakkain kiinteitä ruokia ja rintamaitoa. Kypsymisen merkinä oli firmikuuttien määrän lisääntyminen. Tutkimuksessa todettiin tapaus-verrokkiasetelmassa hienovaraisia yhteyksiä mikrobiston lajiston ja saarekesoluvasta-aineiden muodostuksen sekä diabeteksen kehittymisen välillä. (Stewart ym 2018)

Davis-Richardsonin ym. 2014 tutkimuksissa useamman autovasta-aineen kehittäville lapsilla on havaittu suolistossa olevan enemmän bakteeroideja kuin firmikuutteja, verrokkeihin eli autovasta-ainenegatiivisiin nähden. Bakteroidit ja firmikuutit kuuluvat suoliston normaaliflooraan. Tutkimuksissa autovasta-ainepositiivisilla lapsilla on suolistossa vähemmän myös butyraattia tuottavia bakteereja kuin verrokeilla. Suolen seinämän läpäisevyys riippuu musiinista, jota valmistetaan butyraattivälitteisesti. Autovasta-ainepositiivisilla suolen seinämä saattaisi siis olla läpäisevämpi kuin verrokeilla, musiinin vähyden vuoksi. Vastasyntyneellä imetys muuttaa merkittävästi suoliston mikrobistoa. Imetetyillä suolistossa on runsaasti bifidobakteereja. Tutkimuksissa on pidetty bifidobakteerien määrän vähentymistä tyypin 1 diabeteksen kehitykselle altistavana lapsuudessa, koska tällöin suolen seinämän läpäisevyys lisääntyy ja mikrobit pääsevät helpommin kulkeutumaan elimistöön. (Ilonen ym. 2019)

Seuraavaksi alkaa tutkimusosio osana syventävien opintojen projektia. Tutkimuksessa selvitetään synnytystavan, varhaisten antibioottihoitojen ja ravitsemuksen vaikutusta tyypin 1 diabeteksen kehittymisessä.

3 AINEISTO

3.1 DIPP-TUTKIMUS

DIPP-tutkimus eli Diabetes Prediction and Prevention study on vuonna 1994 aloitettu seurantatutkimus, jossa kerätään tietoa tyypin 1 diabeteksestä taudin ennustamiseksi ja ehkäisemiseksi. Kyseessä on prospektiivinen tapaus-verrokkitutkimus, jossa seurataan lasten muuttumista beetasoluautovasta-ainepositivisiksi sekä sairastumista tyypin 1 diabetekseen seuranta-aikana. Tutkimuksen pitkän tähtäimen tavoitteena on kehittää rokotus tai muu hoitokeino, jolla ehkäistä tai hoitaa tautia. Tutkimuksessa ovat mukana Turun, Tampereen ja Oulun yliopistolliset keskussairaalat. Tutkimuksessa vastasyntyneiltä määritetään diabetekselle altistavia riskigeenejä napaverestä. Riskigeenin löytyessä perhe voi halutessaan lähteä mukaan seurantatutkimukseen. Mukaan lähteneen perheen lapsen beetasoluautovasta-aineiden muodostumista seurataan verikokein tietyn aikataulun mukaan. Ensimmäisenä ikävuotena vasta-ainemuodostusta seurataan kolmen kuukauden välein. Sitten kertaalleen puolentoistavuoden ja kahden vuoden iässä. Kahden ikävuoden jälkeen seuranta tapahtuu puolivuositain tai vuosittain. Seuranta-aikana kerätään tietoa myös lasten varhaisesta ravitsemuksesta, muun muassa imetyksestä sekä äidinmaitokorvikkeiden käytöstä. Lisäksi seurataan lasten rokotuksia ja vieroittautumista maitopohjaisesta ravinnosta kiinteisiin ruokiin, kuten viljoihin. Ulostenäytteistä tutkitaan suolen mikrobiston koostumusta.

3.2 AINEISTON KERUU

Tässä aineistossa tutkimushenkilöt olivat vuosien 2001 ja 2015 välisenä aikana syntyneitä lapsia Varsinais-Suomen alueelta. Analyysissä oli mukana yhteensä 420 lasta. Seuranta-ajan mediaani tässä tutkimuksessa oli 11 vuotta. Aineisto koostuu DIPP:n keräämistä tutkimushenkilöiden autovasta-ainetiedoista, Kliinisen tietopalvelun kautta saadusta datasta sekä potilastietojärjestelmästä kerätyistä lasten synnytys- ja varhaisvaiheen sairauskertomustekstien tiedoista. Lasten perimät tarkastettiin diabetekselle altistavan ja suojaavan perimän osalta. Seurattavat autovasta-aineet olivat IA2, IAA ja GADA. Vasta-aineiden muodostumista seurattiin säännöllisesti tutkimusvastaanotoilla otetuista verikokeista. Lapsista kerättäviä tietoja olivat lisäksi syntymäikä ja -paino, syntymätapa, Apgarin pisteet, sairaalahoidot ensimmäisten 30 vuorokauden aikana (keskola, infektiio-, teho- ja puhdasosasto), äidin synnytyksen aikaiset antibiootihoidot, lapsen saamat antibiootihoidot 30 vuorokauden kuluessa syntymästä sekä diabetekseen sairastuminen seuranta-aikana.

3.3 MENETELMÄT

Tutkimukseen osallistuvilta määritettiin HLA II luokan haplotyyppi napaverestä. Tutkimukseen pääsivät mukaan tietyn haplotyyppin omaavat lapset. DQB1*02, DQB1*03:01, DQB1*03:02 ja DQB1*06:02/3 olivat haplotyyppisiä, joita pidettiin diabetesriskiä suurentavina haplotyyppinä. Tutkittavilla ei saanut olla diabetekselta suojaavaa haplotyyppiä perimässään. Tutkimuksen edetessä myös muita haplotyyppisiä otettiin mukaan tutkimukseen, kuten DQA1 ja DRB1*04.

Vasta-ainepositiivisia olivat lapset, joilla todettiin vähintään yksi pysyvä autovasta-aine tai useampi eri autovasta-aine veressä. Vasta-ainepositiiviset eli tapauslapset paritettiin vasta-ainenegatiivisten verrokkilasten kanssa. Yhtä tapauskohdetta oli yhdestä kahteen kontrollia. Parit kaltaistettiin sukupuolen ja syntymäaikojen suhteen. Lopulliseen analyysiin hyväksyttiin 420 lasta, joista 150 oli vasta-ainepositiivisia ja kantoivat riskigeeniä. Loput lapsista olivat verrokkiryhmään kuuluvia lapsia, joilla ei muodostunut vasta-aineita. 21 lasta hylättiin analyysistä sopivan parin puuttumisen vuoksi. Tutkimukseen kuului yhteensä 244 poikaa (58 %) ja 176 tyttöä (42 %). Vasta-ainepositiivisista lapsista määritettiin sekokonservoitumisaika eli ikä, jolloin vasta-aineita ilmestyi vereen. Seurattavat vasta-aineet olivat IAA, GADA ja IA2. Vasta-ainepositiivisista lapsista IAAta muodostui 95:lle (63 %), GADAA 110:lle (73 %) ja IA2ta 72:lle (48 %) henkilölle tapausryhmässä. Myös ZnT8A vasta-ainetta muodostui pienellä osalla, mutta tätä vasta-ainetta ei otettu huomioon analyysissä. Keskimääräinen serokonvertoitumisikä oli noin 3 vuoden iässä. Vasta-ainemuodostuksen jälkeen seurattiin taudin puhkeamista eli diabeteksen ilmenemistä. Tilastoanalyysit tehtiin SPSS ohjelmistolla. Analyysissä käytettiin Log-rank testiä. Eroja havainnollistamaan luotiin Kaplan-Meierin survival-kuvaajat. Tilastollisen merkitsevyyden rajana pidettiin p-arvoa 0,05.

Sektiota eli keisarileikkausta on pidetty yhtenä varhaisvaiheen riskitekijänä diabeteksen synnyssä. Synnytystavan yhteyttä beetasoluautoimmunitettiin sekä tyypin 1 diabeteksen kehittymiseen tutkittiin synnytystapavertailulla. Lapset jaettiin synnytystavan mukaan alateitse ja sektioilla syntyneisiin. Analyysi tehtiin edellisen jaottelun lisäksi myös alatesynnytyksen ja puhtaan sektion välillä. Puhtaalla sektioilla tarkoitetaan tilannetta, jossa lapsivesi ei ole ehtinyt puhjeta ennen synnytystä. Käytännössä tämä tarkoittaa elektiivisiä eli suunniteltuja sektioita.

Lasten varhaista ravitsemusta vertailtiin keskenään. Tiedot perustuvat lasten varhaisvaiheiden imetystietoihin. Lapset jaettiin Kliinisen tietopalvelun tarjoaman aineiston perusteella kolmeen ryhmään. Ryhmäjako oli 1. pelkkää rintamaitoa saaneet lapset, 2. rintamaitoa yhdessä maitokorvikkeen kanssa saaneet sekä 3. pelkkää maitokorviketta saaneet lapset. Lasten ravitsemusta seurattiin kolmen kuukauden ikään asti.

Synnytyksertomusteksteistä kerättiin äitien ja vastasyntyneiden tiedot saaduista antibioottihoidoista sekä sairastetuista infektioista. Näitä tietoja käytettiin analyysissä. Erityisenä mielenkiinnon kohteena oli *Streptococcus agalactiae* (GBS) -bakteeri-infektiot, jotka ovat merkittäviä ennen aikaisten synnytysten ja vastasyntyneiden lapsien sepsisten aiheuttajia. Raskauden lopulla naisilta seulotaan *S. agalactiae* -bakteeria synnytyskanavan pinnasta sivelynäytteellä. Sivelynäytteen osoittauduttua positiiviseksi, äidille annetaan profylaktinen antibiootti lapsen tartunnan ehkäisemiseksi. Aineistossa bakteerin kantajien siis tiedetään varmuudella saaneen antibioottihoidon. Bakteeri voi hoitamattomana aiheuttaa äidille synnytyksen aikaisen kuumeisen infektion ja tarttua myös lapsen. Vastasyntyneellä *S. agalactiae* infektio voi olla hengenvaarallinen, koska bakteeri aiheuttaa vakavan sepsiksen. Äidin saama antibiootti pääsee verenkierron kautta myös lapseen, ja voi siten haitallisesti aiheuttaa muutoksia kehittyvässä suolistossa sekä immuunipuolustuksessa. Osalla synnyttäjistä ilmenee synnytyksen aikana myös muiden mikrobien aiheuttamia infektio-oireita sekä kuumetta, jolloin herkästi määrätään antibiootteja.

4 TULOKSET

Ohessa on tilastoja seuratuista tekijöistä. Taulukoissa havainnollistetaan ryhmien kokoa sukupuolen, syntymätavan, varhaisen ravitsemuksen, antibiootin saannin, vasta-ainemuodostuksen ja diabeteksen kehittymisen suhteen. Lisäksi taulukossa 2 esitetään tapaus- ja verrokkiryhmien välisiä eroja. Taulukossa 3 on koottuna seuranta-ajat.

Taulukko 1. Seurattavien tekijöiden määriä lukumäärinä sekä prosentteina.

Otos	Kyllä (N) / %	Ei (N) / %
Pojat	244 / 58	176 (tyttöjen määrä) / 42
Varhainen antibiootti	41 / 10	379 / 90
Synnytyksen aikainen antibiootti	28 / 7	392 / 93
Alateitse syntyneet	363 / 86	57 / 14
Keisarileikkauksella syntyneet	57 / 14	363 / 86
Täysimetys	126 / 35	238 / 65
Vasta-aineiden muodostus	151 / 36	269 / 64
Diabetekseen sairastuneet	66 / 16	354 / 84

Taulukko 2. Tapaus- ja verrokkiryhmien vertailua.

Otos	Verrokki	Tapaus
poikia	159	85
tyttöjä	110	66
alateitse syntyneet	233	130
keisarileikkauksella syntyneet	36	21
Äidin antibiootista ei varmuutta	254	138
Äiti sai antibiootin	15	13
Lapsen antibiootit 1 kk ei saanut	247	132
Lapsen antibiootit 1 kk sai	22	19

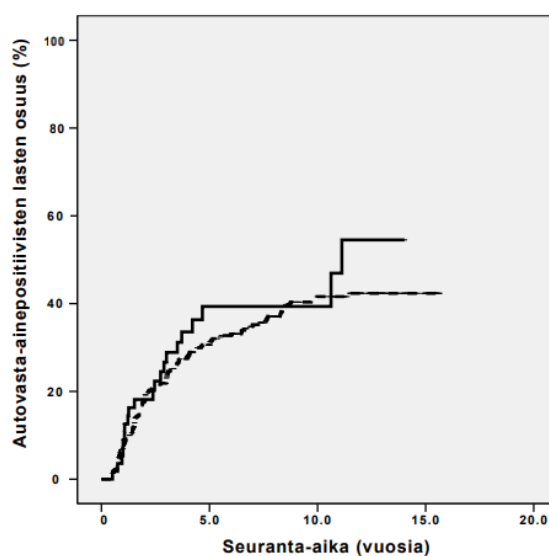
Taulukko 3. Seuranta-ajat.

Seuranta-aika (v) syntymästä ensimmäisen vasta-aineen ilmaantumiseen.			
	minimi	maksimi	keskiarvo
tapaukset	0,49	11,42	8,12
verrokki	0,33	15,65	8,12

Seuranta-aika (v) syntymästä T1D diagnoosiin.			
	minimi	maksimi	keskiarvo
tapaukset	1,03	16,62	8,61
verrokki	2,49	16,67	11,03

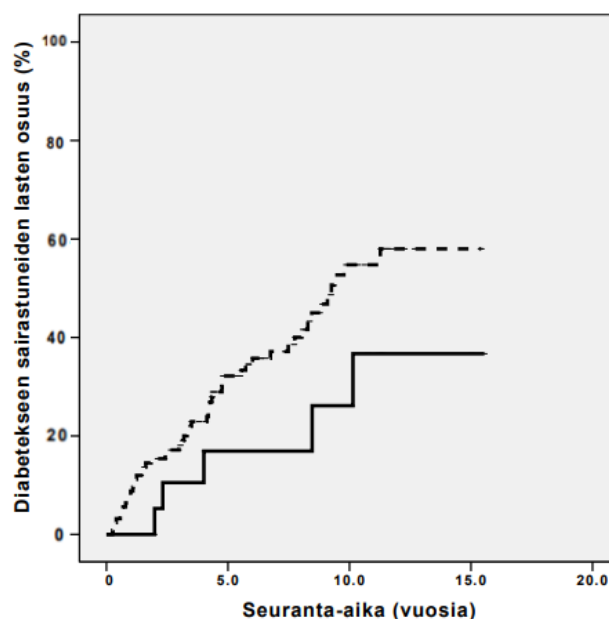
4.1 SYNNYTYSTAPOJEN VERTAILU

Alateitse syntyi 363 lasta, keisarileikkauksella 57. Keisarileikkauksella syntyneistä, puhtaita sektioita oli 32. Alateitse syntyneistä lapsista 130 (35,8 %) muodosti vasta-aineita. Sektioryhmässä vastaava luku oli 21 (36,8 %) ja puhtaalla sektioilla syntyneillä 11 (34,4 %). Tutkimuksen mukaan synnytystapa ei vaikuta ensimmäisen vasta-aineen muodostumiseen tai diabeteksen kehittymiseen seuranta-aikana. Eroa vasta-ainemuodostuksessa ei siis havaittu verrattessa alateitse ja keisarileikkauksella syntyneitä lapsia (p-arvo 0,40). Eroa ei havaittu myöskään alatiesynnytyksen ja puhtaan sektorin välillä, (p-arvo 0,94). Kuvissa 1 ja 3 Kaplan-Meierin käyrät nousevat lähes yhdensuuntaisesti. Vastaavanlaiset tulokset saatiin, kun verrattiin puhtaalla sektioilla ja alatiesynnytyksellä syntyneitä lapsia. Lapsivedenmenolla ennen lapsen syntymää ei näyttäisi olevan merkitystä serokonversiossa.



Kuva 1. Synnytystavan vaikutus lapsen vasta-ainemuodostukseen. Viiva. keisarileikkauksella syntyneet, katkoviiva. alateitse syntyneet

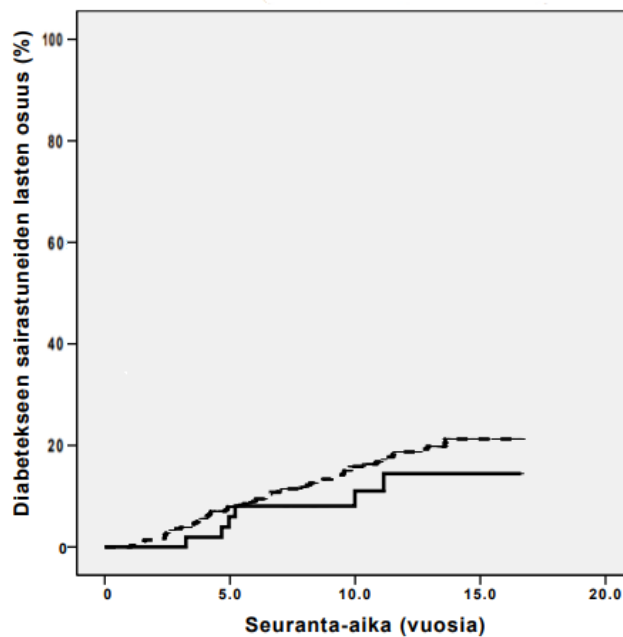
Kuvassa 2 nähdään suuntaus, joka näyttää siltä, että alateitse syntyneillä serokonversion jälkeen tauti puhkeaisi nopeammin kuin sektiolla syntyneillä lapsilla. Kuvaajan mukaan keisarileikkauksella syntyneillä tauti siis puhkeaisi vasta myöhemmin vasta-aineiden muodostumisen jälkeen kuin alateitse syntyneillä. Sektiolla syntyneistä serokonvertoituneista lapsista viisi (25,0 %) kehitti diabeteksen. Puhtaalla sektiolla syntyneistä vastaava luku oli kaksi (10,0 %), alateitse syntyneillä 51 (40,8 %). Diabeteksen puhkeamisessa serokonversion jälkeen ei kuitenkaan havaittu tilastollisesti merkitsevää eroa alateitse ja keisarileikkauksella syntyneillä, (p-arvo 0,12). Verratessa samalla tavalla puhdasta sektiota ja alatiesynnytystä, ei todeta myöskään tilastollista merkitsevyyttä. ryhmien välillä, (p-arvo 0,10).



Kuva 2. Ero ryhmien välillä serokonversion jälkeisessä diabeteksen puhkeamisnopeudessa synnytystapoja vertaamalla.

Viiva. keisarileikkauksella syntyneet, katkoviiva. alateitse synnytyt

Alateitse syntyneistä 60:lle (16,5 %) kehittyi diabetes seuranta-aikana. Keisarileikkauksella syntyneistä 6:lle (10,5 %) kehittyi diabetes. Puhtaalla sektiolla syntyneistä 3:lle (9,4 %) kehittyi diabetes seurannassa. Ryhmien välillä ei havaittu tilastollisesti merkitseviä eroja diabeteksen kehittymisessä. Verratessa alatiesynnytystä ja keisarileikkausta p-arvo oli 0,34. Verratessa alatiesynnytystä ja puhdasta sektiota p-arvo oli 0,26. Synnytystavalla ei tutkimuksen mukaan ole yhteyttä diabeteksen kehittymiseen seuranta-aikana. Tapausryhmässä keskimääräinen seuranta-aika oli 8,61 vuotta ja verrokkiryhmässä 11,03 vuotta.



Kuva 3. Synnytystavan vaikutus sairastumiseen tyypin 1 diabetekseen. Viiva. keisarileikkauksella syntyneet, katkoviiva. alateitse synnytyt

Taulukko 4. Tulokset. Alatiesynnytyksen ja keisarileikkauksen vertaus.

ensimmäisen vasta-aineen ilmaantuminen	N kaikki	Autovasta-aine positiivisia	%	P-arvo
alatie	363	130	35,8	
sektio	57	21	36,8	0,40
T1D kehittyminen serokonversion jälkeen		N T1D		
alatie	125	51	40,8	
sektio	20	5	25,0	0,12
T1D kehittyminen		N T1D		
alatie	363	60	16,5	
sektio	57	6	10,5	0,34

Taulukko 5. Tulokset. Alatiesynnytyksen ja puhtaan keisarileikkauksen vertaus.

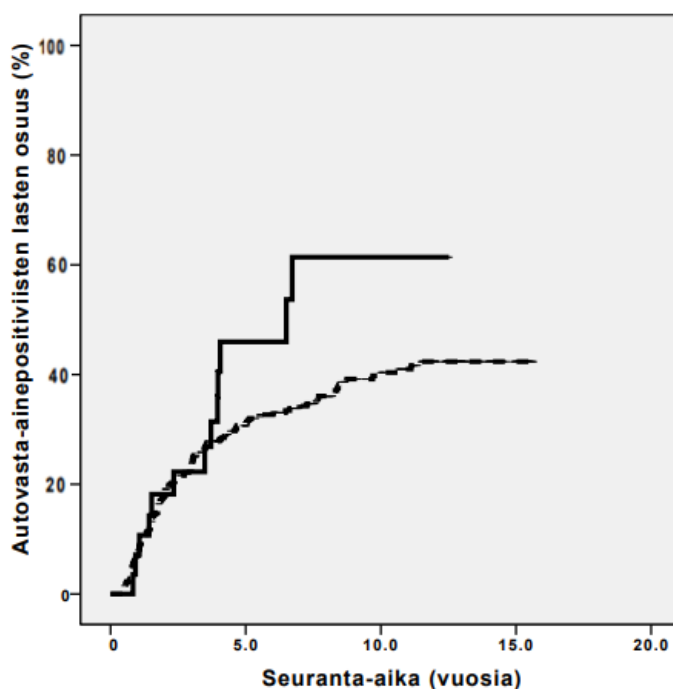
ensimmäisen vasta-aineen ilmaantuminen	N kaikki	Autovasta-aine positiivisia	%	P-arvo
alatie	363	130	35,8	
puhdas sektio	32	11	34,4	0,94
T1D kehittyminen serokonversion jälkeen		N T1D		
alatie	125	51	40,8	
puhdas sektio	20	2	10,0	0,10
T1D kehittyminen		N T1D		
alatie	363	60	16,5	
puhdas sektio	32	3	9,4	0,26

4.2 ANTIBIOOTTIEN YHTEYS DIABETEKSEEN

4.2.1 ÄIDIN ANTIBIOOTTIHOITO SYNNYTYKSESSÄ

Aineistoon kuului 420 äitiä, joista kahtakymmentäkahdeksaa varmasti hoidettiin lapsen *S. agalactiae* tartunnan ehkäisemiseksi G-penisilliinillä synnytyksen yhteydessä. Loput 392 naista sisältävät ne, jotka eivät saaneet antibioottia sekä ne, jotka ovat voineet saada antibioottihoidon, mutta tästä ei ole täyttä varmuutta.

Antibiootteja saaneiden äitien lapsista 13 muuttui seuranta-aikana vasta-ainepositiiviseksi (46,4 %), kun taas epävarmojen ryhmässä vastaava osuus oli 138 (35,2 %). Analyysin mukaan lapsilla, joiden äidit ovat saaneet antibioottihoidon synnytyksen yhteydessä ei muodostu useammin vasta-aineita seuranta-aikana kuin niillä lapsilla, joiden äiti ei tiettävästi ole antibioottia saanut. Ero lasten vasta-ainemuodostuksessa on nähtävillä kuvassa 4. Tilastollista merkitsevyyttä ei näin pienellä otoksella todeta, (p-arvo 0,13). Ero on todellisuudessa luultavasti suurempi, koska osa antibioottihoidoista jää merkitsemättä potilaskertomusteksteihin.



Kuva 4. Äidin synnytyksen aikaisen antibioottihoidon vaikutus lapsen vasta-ainemuodostukseen. Viiva. sai antibioottia, katkoviiva ei varmuutta antibiootista

Serokonvertoituneita lapsia, joiden äidit saivat synnytyksessä antibiootteja, oli 13. Näistä kolmestatoista lapsesta kolme (23,07 %) kehitti diabeteksen myöhemmin. Serokonvertoituneita lapsia, joiden äidin antibiootista ei ollut varmuutta oli 132. Näistä 53 kehitti myöhemmin diabeteksen (40,15 %). Ryhmien välillä ei todeta tilastollisesti merkitsevää eroa, (p-arvo 0,79). Äidin antibiootihoidolla ei näyttäisi olevan yhteyttä lapsen diabeteksen kehittymisnopeuteen serokonversion jälkeen. Serokonvertoitumisen jälkeen tauti puhkeaa keskimäärin yhtä nopeasti molemmissa ryhmissä äitien antibiootihoidoista huolimatta. Tutkittavien lukumäärä tässä analyysissä oli pieni.

Lapsia, joiden äiti sai antibiootin synnytyksessä, oli 28. Näistä lapsesta kolmelle (10,71 %) kehittyi diabetes seuranta-ajan loppuun mennessä. Lapsia, joiden äidin antibiootihoidosta ei ollut varmuutta oli 392, näistä 63 kehitti diabeteksen myöhemmin (16,07 %). Seuranta-ajan puitteissa ei voida todistaa yhteyttä äidin antibiootihoidon ja lapsen diabetesdiagnoosin välillä. Ryhmien välillä ei todeta tilastollisesti merkitsevää eroa, (p-arvo 0,97). Lapsilla oli siis yhtäläinen riski saada diabetes, huolimatta siitä, saiko äiti antibioottihoitoa synnytyksen yhteydessä vai ei.

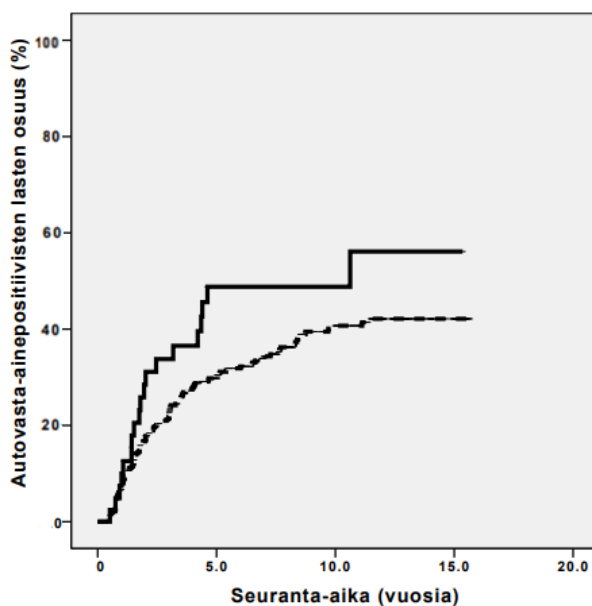
Taulukko 6. Tulokset. Äidin antibioottihoito synnytyksessä.

ensimmäisen vasta-aineen ilmaantuminen	N kaikki	Autovasta-aine positiivisia	%	P-arvo
ei varmuutta	392	138	35,2	
sai antibioottia	28	13	46,4	0,13
T1D kehittyminen serokonversion jälkeen		N T1D		
ei varmuutta	132	53	40,2	
sai antibioottia	13	3	23,1	0,79
T1D kehittyminen		N T1D		
ei varmuutta	392	63	16,1	
sai antibioottia	28	3	10,7	0,97

4.2.2 VASTASYNTYNEEN ANTIBIOOTTIHOITO

Analyysiin hyväksyttiin vastasyntyneiden osalta antibioottihoidoksi suonensisäiset antibiootit, joita annettiin keskolassa sekä infektio- ja teho-osastolla. Näitä antibiootteja olivat muun muassa kefalosporiinit, G-penisilliini yhdessä gentamysiinin kanssa, ampisilliini ja atsitromysiini. Antibiooteilla hoidettiin infektioita, kuten verenmyrkytyksiä ja keuhkokuumeita. Antibiootteja annettiin usein myös täristelyn vuoksi ennenaikaisesti syntyneillä.

420:stä vastasyntyneestä lapsesta, 41 sai antibioottihoidon ensimmäisten kolmenkymmenen elinvuorokauden aikana. 19 näistä antibiootin saaneista muuttui vasta-ainepositiiviseksi seuranta-aikana (46,3 %). Antibiootit välttäneistä lapsista, 132 (34,8 %) muodosti vasta-aineita saman ajanjakson aikana. Varhaisilla antibioottihoidoilla ei todeta yhteyttä lisääntyneeseen vasta-ainemuodostukseen haiman saarekkeita vastaan. Log-rank testissä ei todeta tilastollisesti merkitsevää eroa ryhmien välillä, (p-arvo 0,071). Tulosta havainnoi Kaplan-Meierin survival-kuvaaja 5.



Kuva 5. Lapsen varhaisen antibioottihoidon vaikutus vasta-ainemuodostukseen. Viiva. antibiootti, katkoviiva. ei antibioottia

Vastasyntyneiden antibioottihoidoilla ei tässä tutkimuksessa todeta olevan yhteyttä diabeteksen puhkeamisnopeuteen serokonvertoitumisen jälkeen. Serokonvertoituneita lapsia, jotka eivät saaneet antibioottia oli 126. Näistä 49 (38,9 %) kehitti diabeteksen myöhemmin. Antibiootteja saaneiden serokonvertoituneiden ryhmässä oli vastaavasti 19 vastasyntyntynyttä. Heistä seitsemän (36,8 %) kehitti diabeteksen. Ryhmien välillä ei havaittu tilastollisesti merkitsevää eroa, (p-arvo 0,73).

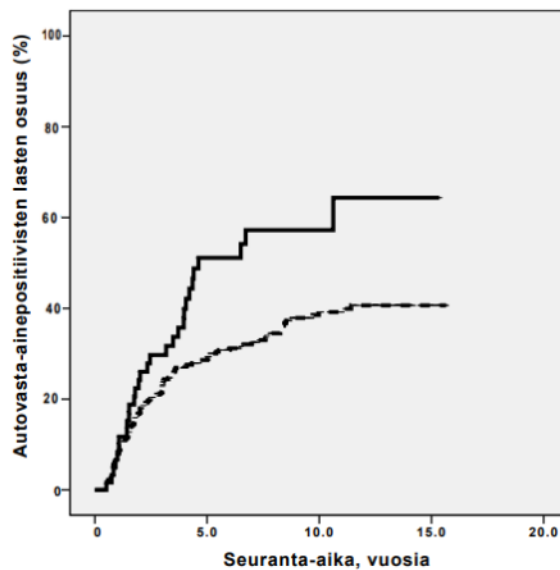
Seuranta-ajan puitteissa lapsilla, joita hoidettiin antibiooteilla, tautia ilmaantui keskimäärin yhtä paljon kuin niillä lapsilla, jotka eivät saaneet antibioottia. Antibiootit välttäneitä lapsia oli 379. Näistä 59 (15,6 %) kehitti diabeteksen seuranta-aikana. Lapsia, jotka saivat antibiootin, oli 41. Näistä 7 kehitti diabeteksen (17,1 %). Ryhmien välillä ei todeta tilastollisesti merkitsevää eroa, (p-arvo 0,76). Täten analyysin mukaan antibiootit, joita lapset ovat saaneet ensimmäisten 30 elinvuorokauden aikana, eivät näytä lisäävän riskiä sairastua diabetekseen.

Taulukko 7. Tulokset. Lapsen antibioottihoidot 1 kk ikään mennessä.

ensimmäisen vasta-aineen ilmaantuminen	N kaikki	Autovasta-aine positiivisia	%	P-arvo
ei antibioottia	379	132	34,8	
sai antibioottia	41	19	46,3	0,071
T1D kehittyminen serokonversion jälkeen		N T1D		
ei antibioottia	126	49	38,9	
sai antibioottia	19	7	36,8	0,73
T1D kehittyminen		N T1D		
ei antibioottia	379	59	15,6	
sai antibioottia	41	7	17,1	0,76

4.2.3 ÄIDIN JA LAPSEN ANTIBIOOTTIHOITO YHDESSÄ

Tutkittaessa samanaikaisesti äidin ja vastasyntyneen saamien antibioottihoitojen vaikutusta lapsen vasta-ainemuodostukseen, havaitaan tilastollisesti merkitsevä ero serokonversiossa ryhmien välillä. P-arvo Log-rank testissä on 0,005. Tämä selvä ero vasta-ainemuodostuksessa on nähtävillä kuvassa 6. Vasta-aineita muodostuu enemmän niillä lapsilla, joilla äiti, vastasyntynyt tai molemmat ovat saaneet antibioottihoitoja. Antibioottia saaneessa ryhmässä oli lapsia 61, näistä 30:lle muodostui vasta-aineita (49,2 %). Vasta-ainemuodostus on vähäisempää lapsilla, jotka eivät ole itse saaneet, tai joidenka äidin synnytyksen aikaisesta antibioottihoidosta ei ole varmuutta. Tähän ryhmän kuului 358 henkilöä eli huomattavasti suurempi määrä lapsia. Näistä lapsista 121 kehitti vasta-aineita (33,8 %). Äidin synnytyksenaikaisella antibioottihoidolla näyttäisi siis olevan vaikutusta lapsen serokonvertoitumiseen, koska ero on suurempi kuin pelkkiä lapsen antibioottihoitoja tarkastellessa (p-arvo 0,071).



Kuva 6. Äitien ja vastasyntyneiden antibioottihoidon yhteys lapsen myöhempään vasta-ainemuodostukseen. Viiva. jompikumpi tai molemmat saivat antibioottia, katkoviiva. kumpikaan ei saanut antibioottia

Analyysin perusteella äidin synnytyksenaikainen ja lapsen varhainen antibioottihoito eivät vaikuta lapsen sairastumiseen diabetekseen seuranta-aikana (p-arvo 0,80). Ryhmässä, jossa lapsi tai äiti sai antibioottia, oli yhteensä 61 lasta. Näistä 9 kehitti diabeteksen myöhemmin (14,8 %). Antibiootit välttäneiden ryhmässä oli 358 lasta. Näistä 57 (15,9 %) kehitti diabeteksen. Ryhmien välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa, (p-arvo 0,80). Antibiootit välttäneiden serokonvertoituneiden ryhmässä oli 115 lasta. Heistä 47 kehitti diabeteksen (40,9 %). Antibioottiryhmässä oli 30 serokonvertoitunutta lasta. Heistä yhdeksän kehitti diabeteksen (30,0 %). Ryhmien välillä ei havaittu tilastollisesti merkitsevää eroa diabeteksen puhkeamisnopeudessa serokonversion jälkeen, (p-arvo 0,53).

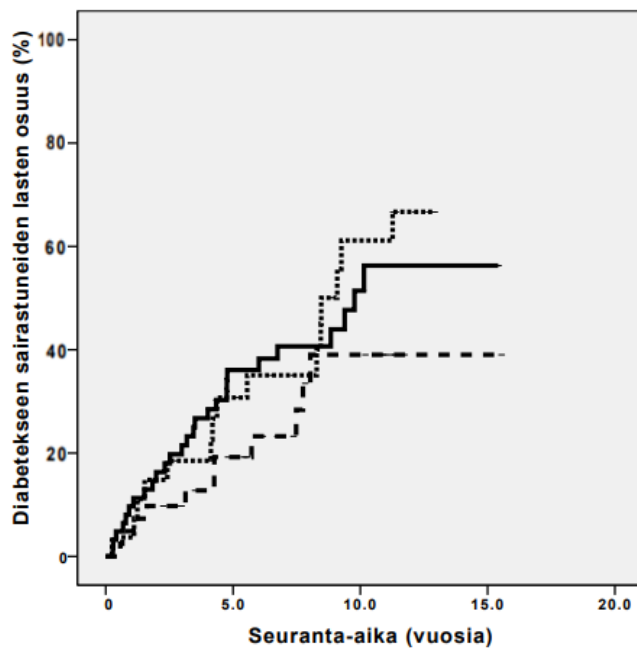
Taulukko 8. Tulokset. Äidin ja lapsen antibiootit yhdessä.

ensimmäisen vasta-aineen ilmaantuminen	N kaikki	Autovasta-aine positiivisia	%	P-arvo
ei antibioottia	358	121	33,8	
sai antibioottia	61	30	49,2	0,005
T1D kehittyminen serokonversion jälkeen		N T1D		
ei antibioottia	115	47	40,9	
sai antibioottia	30	9	30,0	0,53
T1D kehittyminen		N T1D		
ei antibioottia	358	57	15,9	
sai antibioottia	61	9	14,8	0,80

4.3 VARHAISEN RAVITSEMUKSEN YHTEYS DIABETEKSEEN

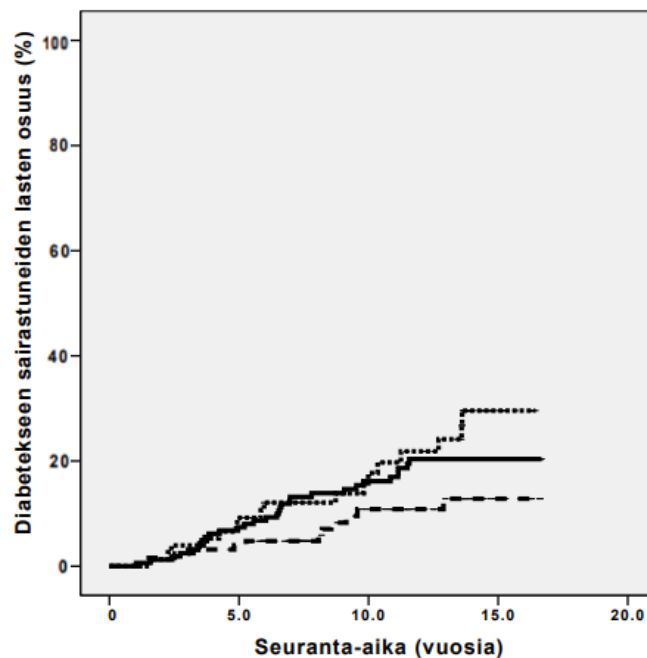
Kattavat tiedot varhaisesta ravitsemuksesta kertyi yhteensä 364 lapsesta. Lapsista 126 oli täysimetettyjä (34,6 %), 162 sai rintamaitoa ja korviketta (44,5 %), 76 sai pelkkää korvikemaitoa (20,8 %) syntymästä kolmen kuukauden ikään asti. 41 eli 32,5 % täysin imetetyistä lapsista serokonvertoitui, eli kehitti vähintään yhden pysyvän vasta-aineen seuranta-aikana. Vastaava luku pelkkää korvikemaitoa saaneilla oli 27 eli 35,5 %. Korviketta ja rintamaitoa saaneilla luku oli 65 vastaten 40,1 %. Erot vasta-ainemuodostuksessa pelkästään imetettyjen, imetettyjen ja korviketta saaneiden sekä pelkästään korviketta saaneiden lasten välillä ovat tilastollisesti merkityksettömiä, (p-arvo 0,68). Varhaisen ravitsemuksen yhteydestä vasta-ainemuodostukseen ei siis voida tehdä päätelmiä ryhmien välillä.

Tilastollisesti merkitseviä eroja ravitsemusryhmien välillä ei havaittu myöskään taudin puhkeamisnopeudessa serokonvertoitumisen jälkeen. Pelkkää rintamaitoa saaneiden serokonvertuneiden lasten ryhmässä 11 (26,8 %) sai diabeteksen. Rintamaitoa ja korviketta saaneiden ryhmässä 27 (43,5 %) ja pelkkää korviketta saaneiden ryhmässä 15 (55,6 %). Kuvassa 7 nähdään suuntaus, joka näyttää siltä, että pelkkää korvikemaitoa saaneet autovasta-ainepositiviset lapset kehittäisivät nopeammin diabeteksen serokonversion jälkeen, kuin vastaavat pelkkää rintamaitoa saaneet lapset. Ero ei ole kuitenkaan tilastollisesti merkitsevä, joten tällaista johtopäätöstä ei voida tehdä (p-arvo 0,28).



Kuva 7. Taudin kehittymisnopeus vasta-ainemuodostuksen jälkeen. Viiva. imetys ja korvike, katkoviiva. täysimetys, pistemäinen viiva. pelkkä korvike

Verratessa ravitsemusryhmien välistä sairastumisriskiä, ei todeta yhteyttä korvikemaidon käytöllä sekä diabeteksella. Lapset, jotka saivat yhdistelmänä rintamaitoa sekä korvikemaitoa tai pelkkää korviketta, ei näyttäisi olevan suurempi sairastumisriski diabetekseen kuin täysimetetyillä lapsilla. Pelkkää rintamaitoa saaneista lapsista 12 (9,52 %) kehitti diabeteksen, rintamaitoa ja korviketta saaneista 30 (18,5 %), korviketta saaneista 17 (22,3 %). Pelkän rintamaidon saanti siis ei näyttäisi suojaavan taudilta. Prosentuaalisesti näyttää siltä, että ryhmien välillä olisi eroa diabetekseen sairastuvien määrässä. Erot eivät kuitenkaan olleet tilastollisesti merkitseviä näin pienessä otoksessa, (p-arvo 0,073). Ryhmien väliset erot ovat nähtävillä kuvassa 8. 5–10 vuoden seuranta-ajan jälkeen ryhmät alkavat erkanemaan toisistaan sairastumisriskissä.



Kuva 8. Survival-kuvaaja lasten varhaisen ravitsemuksen ja diabeteksen yhteydestä. Viiva. imetys ja korvike, katkoviiva. täysimetys, pistemäinen viiva. pelkkä korvike

Taulukko 9. Tulokset. Varhainen ravitseminen

ensimmäisen vasta-aineen ilmaantuminen	N kaikki	Autovasta-aine positiivisia	%	P-arvo
rintamaito	126	41	32,5	
rintamaito ja korvike	162	65	40,1	
korvike	76	27	35,5	0,68
T1D kehittyminen serokonversion jälkeen		N T1D		
rintamaito	41	11	26,8	
rintamaito ja korvike	62	27	43,5	
korvike	27	15	55,6	0,28
T1D kehittyminen		N T1D		
rintamaito	126	12	9,5	
rintamaito ja korvike	162	30	18,5	
korvike	76	17	22,3	0,073

5 PÄÄTELMÄT

Tutkimusaineistossa yhteensä 66 lasta sai diabetesdiagnoosin seuranta-aikana (15,7 %). Keskimääräinen sairastumisikä oli noin 6-vuotiaana. Äidin synnytyksen aikaisten antibioottihoitojen ja lapsen diabetesdiagnoosin välillä ei voitu osoittaa tilastollista merkitsevyyttä (p-arvo 0,97). Samankaltaisia tuloksia on saanut Haupt-Jørgensenin ym. (2018) tutkimusryhmä tanskalaisessa rekisteritutkimuksessa, jossa tutkittiin äidin raskauden aikaisten antibioottihoitojen yhteyttä lapsen myöhempään diabeteksen sairastumisriskiin. Tutkimuksessa oli mukana 75 629 lasta, joista 336 sai diabeteksen neljäntoista vuoden seuranta-aikana (0,44 %). Tutkimuksessa ei havaittu yhteyttä äidin kapea- eikä laajakirjoisten raskauden aikana saatujen antibioottien ja lapsen diabetesriskin kanssa. Myöskään norjalaisessa väestöpohjaisessa tutkimuksessa ei havaittu äidin raskauden aikaisten antibioottihoitojen vaikuttavan lapsen diabetesriskiin (Tapia ym. 2018).

Antibioottihoitojen yhteydestä diabetekseen on ristiriitaista tutkimustietoa, puolesta ja vastaan. Lapsen ensimmäisten kolmenkymmenen elinpäivän aikaisten antibioottihoitojen ja haiman saarekkeiden vasta-ainemuodostuksen välillä ei havaittu tilastollisesti merkitsevää eroa ryhmien välillä tässä tutkimuksessa otoksen ollessa pieni, (p-arvo 0,071). Suuremmassa TEDDY-tutkimuksessa seurattiin geneettisesti alttiiden lapsien autoimmunitietin kehittymistä haiman saarekesoluja vastaan viidentoista vuoden ajan. Lasten antibioottitiedot kerättiin kolmen kuukauden iästä neljään ikävuoteen asti vanhempien antamien tietojen perusteella. Suurimmat tilastoidut antibioottiryhmät olivat kefalosporiinit, penisilliinit ja makrolidit. TEDDYssä ei havaittu syy-yhteyttä varhaislapsuuden antibioottihoitojen eikä autoimmunitietin kehittymisen välillä. (Kemppainen ym. 2017). Aikaikkuna antibioottihoidoille oli TEDDYssä huomattavasti pitempi kuin DIPP-tutkimuksessa, jossa se oli vain kolmekymmentä vuorokautta syntymästä. Tutkimus on siltä osalta ja kokoluokkansa vuoksi luotettavampi kuin tämä DIPP-tutkimuksen tulos. Myöskään norjalaisten kohorttitutkimuksessa ei havaittu yhteyttä lapsen ensimmäisten kuuden ja kahdeksantoista elinkuukauden aikaisten antibioottihoitojen yhteydestä diabetesriskiin (Tapia ym. 2018)

Tutkittaessa yhdessä äitien ja vastasyntyneiden antibioottihoitojen vaikutusta saarekesoluvasta-aineiden muodostumiseen havaittiin tilastollisesti merkitsevä ero ryhmien välillä, (p-arvo 0,005). Vasta-aineita muodostuu enemmän niillä lapsilla, joilla äiti, lapsi tai molemmat ovat saaneet antibioottihoitoja. Vasta-ainemuodostus on vähäisempää, jos lapsi tai äiti eivät kumpikaan ole saaneet antibiootteja. Kirjallisuudesta ei löydy tutkimuksia, joissa tällaista yhteistä äitien ja lapsien vertailua olisi tehty. Lisätutkimus aiheesta olisi siis tarpeen.

Verratessa lasten varhaista ravitsemusta, ei pystytty osoittamaan korvikemaidon lisäävän riskiä diabeteksen kehittymiseen, (p-arvo 0,073). Täysimetetyillä suoliston mikrobisto eroaa merkittävästi verrattuna korviketta saaneisiin lapsiin. Imetetyillä lapsilla on suolistossa runsaasti bifidobakteereja ja laktobasilleja, joita on paljon vähemmän korviketta saaneilla lapsilla. Korviketta saaneilla on suurempi määrä enterobakteereja ja bakterioideja. (Gülden 2018) Mikrobiston koostumusten ero voi osittain selittää miksi immuunipuolustus häiriintyy ja diabeteksen patogeneesi etenee.

Korviketta ja rintamaitoa saaneilla mikrobiston koostumukset ovat erilaiset. Ihmisen rintamaito sisältää oligosakkarideja, joita lapsen suolistobakteerit hyödyntävät energiatuotannossaan. Bakteerit fermentoivat oligosakkaridit lyhyketjuisiksi rasvahapoiksi, kuten butyraatiksi ja asetaatiksi. Butyraatti säätelee suolen seinämän läpäisevyyttä, eli estää vuotavaa suolta, jonka kautta mikrobeilla on mahdollisuus päästä elimistöön. (Gülden, 2018). Imetyksen hyötyjä tukevia tutkimuksia on julkaistu paljon aikaisemmin. Imetetyillä on muuan muassa enemmän bifidobakteereja, jotka suojaavat suolen seinämää ja siten ehkäisevät taudinaiheuttajien pääsyä elimistöön (Ilonen ym. 2019). Tyypin 1 diabeetikoilla bifidobakteereja on osoitettu olevan vähemmän kuin terveillä lapsilla. Terveisiin verrattuna diabeetikoilla suolen seinämä on vuotavaisempi, mikrobisto on yksipuolisempi, suoliston limakalvo on tulehtuneempi ja immuunijärjestelmä on puutteellisemmin kehittynyt (Niinistö ym. 2018). Imetystä ja erityisesti rintamaidon koostumusta on pidetty tekijöinä, jotka suojaivat taudilta. Uusimpien tutkimusten mukaan rintamaito ei ehkä suojaakaan autoimmunitietin kehittymiseltä ja diabeteksen puhkeamiselta, kuten on aikaisemmin luultu. Rintamaidon koostumuksesta ja lapsen immuunipuolustuksen kehityksestä tarvitaan kuitenkin lisää kattavia tutkimuksia.

Tutkimuksen heikkoutena voidaan pitää pientä otoskokoa. Tilastollisten erojen havaitsemiseksi tarvittaisiin suurempi kohortti. Tietoa on koottu useammasta eri lähteestä, jolloin virheellisen tiedon tai kirjaamisvirheiden riski kasvaa. Analyysjä varten synnytys- ja antibioottitiedot on kerätty manuaalisesti potilastietojärjestelmästä, jolloin tulokset ovat osittain kerääjän varassa. Heikkoutena voidaan pitää myös osin puutteellisia tietoja synnyttävien äitien antibioottihoidoista. Tutkimuksen etuina voidaan pitää lasten tarkkaa seuranta sekä pitkäaikaista sitoutumista tutkimukseen. Seuranta-aikana myös suhteellisen moni riskissä oleva lapsi sairastui diabetekseen verrattuna muihin kirjallisuudessa löytyneisiin tutkimuksiin.

LÄHTEET

- Aarnisalo, J., Veijola, R. & Vainionpää, R., 2008. Cytomegalovirus infection in early infancy: risk of induction and progression of autoimmunity associated with type 1 diabetes. *Diabetologia*, 51(5), pp. 769-772.
- Araki, Y. & Mimura, T., 2017. The histone modification code in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Mediators of inflammation*, <http://doi.org/10.1155/2017/2608605>, Issue Article ID 2608605, p. 12.
- Blanter, M., Sork, H. & Tuomela, S., 2019. Genetic and environmental interaction in type 1 diabetes: a relationship between genetic risk alleles and molecular traits of enterovirus infection?. *Current Diabetes Reports*, 19(9), p. 82.
- Coppieters, K. T., Wiberg, A. & von Herrath, M. G., 2012. Viral infections and molecular mimicry in type 1 diabetes. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, 120(12), pp. 941-949.
- Dang, M. N., Buzzetti, R. & Pozzilli, P., 2013. Epigenetics in autoimmune diseases with focus on type 1 diabetes. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 29(1), pp. 8-18.
- Davis-Richardson, A. G. ym., 2014. Bacteroides dorei dominates gut microbiome prior to autoimmunity in Finnish children at high risk for type 1 diabetes. *Frontiers in microbiology*, 5(678).
- Giannopoulou, E. Z., Winkler, C., Chmiel, R. & Matzke, C., 2015. Islet autoantibody phenotypes and incidence in children at increased risk for type 1 diabetes. *Diabetologia*, 58(10), pp. 2317-2323.
- Gülden, E., 2018. Lifestyle factors affecting the gut microbiota's relationship with type 1 diabetes. *Current diabetes reports*, 18(11), p. 111.
- Hakola, L., Miettinen, M. E., Syrjälä, E. & Åkerlund, M., 2019. Association of cereal, gluten, and dietary fiber intake with islet autoimmunity and type 1 diabetes. *JAMA Pediatrics*, 173(10), pp. 953-960.
- Harjutsalo, V., Sund, R., Knip, M. & Groop, P.-H., 2013. Incidence of type 1 diabetes in Finland. *JAMA*, 310(4), pp. 427-428.

Haupt-Jørgensen, M. ym., 2018. Maternal antibiotic use during pregnancy and type 1 diabetes in children - A national prospective cohort study. *Diabetes care*, 41(12), pp. 155-157.

Hermansson, H. ym., 2019. Breast milk microbiota is shaped by mode of delivery and intrapartum antibiotic exposure. *Frontiers in Nutrition*, 6(4).

Hu, Y., Jin, P., Peng, J. & Zhang, X., 2016. Different immunological responses to early-life antibiotic exposure affecting autoimmune diabetes development in NOD mice. *Journal of Autoimmunity*, Osa/vuosikerta 72, pp. 47-56.

Hyppönen, E. ym., 2001. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-control study. *Lancet*, 358(9292), pp. 1500-1503.

Hyöty, H., 2016. Viruses in type 1 diabetes. *Pediatric diabetes*, 17(22), pp. 56-64.

Hänninen, A., Lahesmaa, R. & Knip, M., 2017. Tyypin 1 diabetes ja autoimmunitetin yhteys ympäristöön. *Duodecim*, 133(18), pp. 1728-1734.

Ilonen, J., Lempainen, J. & Veijola, R., 2019. The heterogeneous pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(11), pp. 635-650.

Indrio, F., Martini, S., Francavilla, R. & Corvaglia, L., 2017. Epigenetic matters: The link between early nutrition, microbiome, and long-term health development. *Frontiers in pediatrics*, Osa/vuosikerta 5, p. 178.

Insuliininpuutosdiabetes: Käypä hoito -suositus, 2018. *Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin, Suomen Sisätautilääkärin yhdistyksen ja Diabetesliiton Lääkärineuvoston asettama työryhmä*, Helsinki: Suomalainen lääkärisseura Duodecim (viitattu 23.01.2019), saatavilla internetissä: www.käypähoito.fi.

Kempainen, K. M., Vehik, K. & Lynch, K. F., 2017. Association between early-life antibiotic use and the risk of islet or celiac disease autoimmunity. *JAMA Pediatrics*, 171(12), pp. 1217-1225.

Knip, M., Åkerblom, H. K., Al Taji, E. & Becker, D., 2018. Effect of hydrolyzed infant formula vs conventional formula on risk of type 1 diabetes. *JAMA*, 319(1), pp. 38-48.

Lampasona, V. & Liberati, D., 2016. Islet Autoantibodies. *Current Diabetes Reports*, 16(6), p. 53.

- Lee, H. S. & Hwang, J. S., 2019. Genetic aspects of type 1 diabetes. *Annals of Pediatric Endocrinology & Metabolism*, 24(3), pp. 143-148.
- Lokki, M.-L., 2005. HLA ja infektiot. *Duodecim*, 121(4), pp. 369-375.
- Martinov, T. & Fife, B. T., 2020. Type 1 diabetes pathogenesis and the role of inhibitory receptors in islet tolerance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1461(1), pp. 73-103.
- Mäkinen, M. ym., 2019. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations at birth in children screened for HLA-DQB1 conferred risk for type 1 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 104(6), pp. 2277-2285.
- Mäkinen, M., Mykkänen, J., Koskinen, M. & Simell, V., 2016. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in children progressing to autoimmunity and clinical type 1 diabetes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(2), pp. 723-729.
- Niinistö, S., Hakola, L., Miettinen, M. & Virtanen Suvi, 2018. Varhainen ravitsemus vaikuttaa 1. tyypin diabeteksen kehittymiseen. *Duodecim*, 134(16), pp. 1577-1584.
- Parviainen, A., But, A., Siljander, H. & Knip, M., 2020. Decreased incidence of type 1 diabetes in young Finnish children. *Diabetes Care*, 43(10).
- Rewers, M., Hyöty, H. & Lernmark, Å., 2018. The Environmental Determinants of Diabetes in the Young (TEDDY) Study: 2018 Update. *Current Diabetes Reports*, 18(12), p. 136.
- Stewart, C. J. ym., 2018. Temporal development of the gut microbiome in early childhood from the TEDDY study. *Nature*, Osa/vuosikerta 562, pp. 583-588.
- Tapia, G., Størdal, K., Mårild, K. & Kahrs, C. R., 2018. Antibiotics, acetaminophen and infections during prenatal and early life in relation to type 1 diabetes. *International Journal of Epidemiology*, 47(5), pp. 1538-1548.
- Walker, W. A., 2017. The importance of appropriate initial bacterial colonization of the intestine in newborn, child and adult health. *Pediatric research*, 82(3), pp. 387-395.
- Vehik, K., Lynch, K. F., Wong, M. C. & Tian, X., 2019. Prospective virome analyses in young children at increased genetic risk for type 1 diabetes. *Nature Medicine*, Osa/vuosikerta 25, pp. 1865-1872.