

Revisión

Factores ambientales implicados en la etiopatogenia de la diabetes mellitus tipo 1 infantil

M.P. BAHÍLLO CURIESES¹, F. HERMOSO LÓPEZ¹, J.M. MARUGÁN DE MIGUELSANZ², T.J. LEMA GARRET³, J. GARCÍA VELÁZQUEZ⁴, C. OCHOA SANGRADOR⁵, J. RODRIGO PALACIOS⁶, S.I. DE LA TORRE SANTOS⁷, F. MANZANO RECIO⁸, J.A. GARCÍA FERNÁNDEZ⁹. GRUPO DE ESTUDIO DE EPIDEMIOLOGÍA DE LA DIABETES TIPO 1 INFANTIL EN CASTILLA Y LEÓN (GEDICYL)

¹Servicio de Pediatría. Hospital Clínico Universitario de Valladolid. ²Servicio de Pediatría. Hospital de León. ³Servicio de Pediatría. Hospital Nuestra Señora de Sonsoles. Ávila. ⁴Servicio de Pediatría. Hospital General de Segovia. ⁵Servicio de Pediatría. Hospital Virgen de la Concha. Zamora. ⁶Servicio de Pediatría. Hospital General Yagüe. Burgos. ⁷Servicio de Pediatría. Hospital Río Carrión. Palencia. ⁸Servicio de Pediatría. Hospital Clínico de Salamanca. ⁹Servicio de Pediatría. Hospital Santa Bárbara. Soria.

RESUMEN

La diabetes tipo 1 es una enfermedad autoinmune específicamente dirigida contra las células beta pancreáticas que ocurre en individuos genéticamente susceptibles sobre los que actúan una serie de factores ambientales. A pesar de los estudios realizados, son múltiples los aspectos etiopatogénicos que permanecen desconocidos. En los últimos años se ha producido un incremento importante de las cifras de incidencia de diabetes tipo 1. Dicho incremento ha sido demasiado rápido como para ser explicado por factores genéticos, adquiriendo cada vez más importancia los factores ambientales. La identificación de estos factores es de suma importancia pues pueden contribuir al conocimiento etiopatogénico de la enfermedad y quién sabe si en un futuro a la prevención de la misma. Son múltiples los factores ambientales implicados en la etiopatogenia de la diabetes tipo 1, entre los cuales clásicamente destacan las infecciones (sobre todo víricas), los factores dietéticos y los tóxicos. En los últimos años se han implicado otros factores como

son las vacunaciones y la asistencia a guarderías, pero sin duda adquieren especial importancia los factores perinatales debido al desplazamiento del diagnóstico de la diabetes a edades cada vez más precoces reflejado en estudios internacionales.

Palabras clave: autoinmunidad, diabetes tipo 1, infecciones, leche de vaca.

ABSTRACT

Type 1 diabetes is an autoimmune disease specifically aimed at pancreatic beta cells that occurs in genetically susceptible individuals on which a series of environmental factors act. In spite of the studies conducted, there are multiple etiopathogenic aspects that are still unknown. In recent years, there has been an important increase of the type I diabetes incidence figures. This increase has been too fast to be explained by genetic factors, environmental factors acquiring increasing importance. The identification of these

Correspondencia: M^a Pilar Bahillo Curieses. Servicio de Pediatría. 8^a planta. Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Avda Ramón y Cajal, 7. 47005 Valladolid.
Correo electrónico: pilarbahillo@yahoo.es
Recibido: Enero 2006. Aceptado: Febrero 2006

© 2006 Sociedad de Pediatría de Asturias, Cantabria, Castilla y León
Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la licencia Reconocimiento-NoComercial de Creative Commons (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.1/es/>), la cual permite su uso, distribución y reproducción por cualquier medio para fines no comerciales, siempre que se cite el trabajo original.

factors is very important since they may contribute to the etiopathogenic knowledge of the disease and, who knows, if to its prevention in the future. There are multiple environmental factors involved in the etiopathogeny of type I diabetes, among which infections (above all viral), dietary and toxic factors, stand out classically. In recent years, other factors have been involved, for example, vaccinations and attendance to nursery schools. However, undoubtedly, perinatal factors acquire special importance due to the shifting of the diagnosis of diabetes to increasingly earlier ages reflected in international studies.

Palabras clave: autoimmunity, type I diabetes, infections, cow's milk.

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus tipo 1 es un trastorno heterogéneo que está causado en la mayoría de los casos por una destrucción autoinmune selectiva de las células beta pancreáticas. En su etiopatogenia se implican factores tanto genéticos como ambientales. Los factores ambientales cada vez parecen jugar un papel más importante en su patogenia, existiendo varias observaciones que hablan a favor de su implicación en la etiopatogenia de la diabetes tipo 1:

- Aunque aproximadamente el 50% de la población caucásica es HLA DR3 y/o DR4 positivos solamente un 0,3% desarrolla diabetes^(1,2).
- La concordancia de diabetes tipo 1 en gemelos idénticos oscila entre el 40-50%⁽³⁻⁶⁾.
- Se ha descrito que la incidencia de diabetes tipo 1 sufre un incremento anual del 3%⁽⁷⁾. Este rápido incremento no es explicable por cambios en la susceptibilidad genética por el corto periodo de tiempo en el que se producen. Los cambios en el código genético humano son lentos, por lo que es muy improbable que un incremento de 3 a 10 veces en la proporción de sujetos con susceptibilidad tenga lugar en cualquier población durante un corto periodo de tiempo^(7,8).
- Se ha constatado la existencia de diferencias de incidencia de diabetes tipo 1 asociadas a migraciones humanas⁽⁵⁾. En niños de origen asiático que emigraron a Gran Bretaña la incidencia aumentó desde un 3,1/100.000/año en 1978-1981 a 11,7/100.000/año en 1988-1990, llegan-

do a ser similar a la población británica nativa (10,5/100.000/año)⁽⁴⁾. De forma parecida la diabetes es un trastorno raro en Samoa del Este (Polinesia), pero cuando estos pacientes emigran a Nueva Zelanda la incidencia pasa de 1/100.000/año a 7/100.000/año⁽⁴⁾.

- Poblaciones racialmente idénticas en diferentes entornos ambientales muestran distinta susceptibilidad para padecer diabetes. Así Lituania y Estonia, con población genéticamente idéntica a la de Noruega, poseen la tercera parte de casos de diabetes⁽⁹⁾. Por otro lado, en Europa aunque la mayoría de la población es caucásica, existe gran variabilidad en la incidencia de diabetes⁽⁸⁾.

Entre los diversos factores ambientales que se han intentado implicar en la etiopatogenia de la diabetes destacan los siguientes:

1. FACTORES CLIMÁTICOS

Algunos autores han sugerido la posible influencia de factores climáticos. Así, la incidencia es distinta si se comparan poblaciones genéticamente homogéneas que viven en zonas distintas y por tanto expuestas a agentes ambientales diferentes. Un clima más frío condicionaría un mayor riesgo para padecer diabetes tipo 1, tal vez en relación a una mayor incidencia de infecciones víricas⁽⁴⁾. De esta forma los países más cercanos al Polo Norte (Noruega, Finlandia y Suecia) tendrían la máxima incidencia de la enfermedad, incidencia que disminuiría gradualmente al aproximarnos al ecuador. Esto constituye lo que se denomina **gradiente norte-sur**⁽⁴⁾ propuesto por primera vez en 1984 invalidándose años después en base a estudios epidemiológicos⁽¹⁰⁾.

2. HIPÓTESIS HIGIÉNICA

La hipótesis higiénica argumenta que la exposición a agentes infecciosos durante la infancia precoz es necesaria para la maduración exitosa del sistema inmune neonatal, basándose en datos experimentales y clínicos^(11,12). Dentro de los datos experimentales nos encontramos con el hecho de que algunas infecciones reducen la incidencia de diabetes autoinmune en experimentos animales y por otro lado si los animales son criados en un medio libre de gérmenes

presentan con mayor frecuencia diabetes que si por el contrario son expuestos a infecciones. Dentro de los datos clínicos existentes encontramos que algunos estudios retrospectivos señalan que los niños con diabetes tienen menos infecciones durante el primer año de vida que los niños sin diabetes e igualmente señalan una menor frecuencia de la enfermedad en niños que viven en hogares con muchas personas en las que las infecciones repetidas son más probables⁽¹³⁾.

3. ASISTENCIA A GUARDERÍA

Diversos estudios concluyen que existe alguna evidencia de un riesgo más bajo de diabetes tipo 1 entre los niños que acuden a guarderías precozmente en la vida, aunque la heterogeneidad entre los estudios hace difícil sacar conclusiones⁽¹³⁻¹⁶⁾. Esto estaría en consonancia con la hipótesis higiénica, pues los niños que acuden a guardería se someten más precozmente a infecciones.

4. FACTORES PERINATALES Y GESTACIONALES

El diagnóstico cada vez a edades más tempranas, objetivado por diversos estudios, sugiere que la destrucción de la célula beta puede comenzar años antes de los síntomas clínicos, pudiendo los factores ambientales actuar incluso durante la vida intrauterina. Varios estudios confirman que ciertos eventos perinatales se asocian con riesgo incrementado de diabetes⁽¹²⁾. Se desconoce el mecanismo de actuación, pudiendo actuar a través de un estrés perinatal inespecífico o pudiendo ser confundidos con otros factores de riesgo no identificados⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. Entre los factores implicados destacan los siguientes:

Infecciones maternas

Se ha intentado relacionar las infecciones maternas durante la gestación, especialmente las infecciones por enterovirus, existiendo resultados contradictorios. Varios trabajos no encontraron asociación significativa entre síntomas maternos de infección y riesgo de diabetes^(12,16,18). Esto no excluye la posibilidad de trastornos infecciosos in útero porque muchos trastornos virales durante la gestación no se

diagnostican⁽¹⁷⁾. En varios, pero no en todos, estudios epidemiológicos se ha encontrado asociación entre infecciones por enterovirus durante la gestación y diabetes tipo 1, sugiriéndose que estas infecciones pueden incrementar el riesgo de diabetes⁽¹⁹⁻²⁴⁾.

Edad materna

El riesgo de diabetes tipo 1 se incrementa según aumenta la edad materna durante la gestación. Existe un riesgo mayor con edades maternas al nacimiento del niño superiores a 25 años, siendo aún mayor con edades superiores a 35 años^(17,25). Algunos autores sólo admiten la edad materna como factor de riesgo, en aquellos casos en los que existen parientes de primer grado afectados de diabetes⁽²⁶⁾. En otros estudios, esta asociación sólo se reconoce en varones⁽²⁷⁾.

Peso al nacimiento

Se ha descrito una asociación entre peso elevado al nacimiento y riesgo incrementado de diabetes tipo 1, no corroborado por todos los autores⁽¹⁷⁾. Existen varios estudios que no han encontrado asociación significativa⁽²⁸⁻³¹⁾, mientras que otros describen que la tasa de incidencia de diabetes tipo 1 aumenta linealmente con el peso al nacimiento⁽³²⁾.

Mes de nacimiento

En estudios recientes, se investiga la asociación del riesgo de diabetes con la estacionalidad del nacimiento, quizás en un intento de relacionarlo con las variaciones estacionales en la nutrición, infecciones y/o otras exposiciones ambientales^(33,34).

Otros factores perinatales que se han intentado relacionar, con resultados contradictorios, son la preeclampsia, el modo de parto (sobre todo cesárea y parto instrumental), la ictericia y la incompatibilidad de grupo^(4,17,26).

5. FACTORES DIETÉTICOS

Datos epidemiológicos y de experimentación animal, sugieren que la exposición dietética en la infancia se asocia con riesgo de diabetes⁽⁶⁾. Aunque la atención se dirige de forma preferente a la leche de vaca, se han implicado otros factores dietéticos.

Proteínas y nitrosamidas.

En Suecia y Australia, los niños con diabetes consumen mayores cantidades de proteínas y nitrosamidas que los controles previo al diagnóstico. Los derivados nitrosos tienen en su composición ácido úrico, que produce toxicidad selectiva, de base no inmunológica, sobre la célula beta en animales. Además actúan inhibiendo la oxidación de la glucosa y la secreción de insulina en respuesta a la hiperglucemia^(6,35).

En Islandia, el diagnóstico de diabetes es más frecuente en otoño⁽⁴⁾. Esto puede deberse al exceso de consumo de carne de cordero ahumada curada, tradicionalmente consumida en torno a año nuevo, el cual es rico en nitrosaminas. Por otro lado, se ha observado que los ratones alimentados con cordero ahumado tienen crías con niveles elevados de glucosa y evidencia de destrucción de la célula beta⁽⁴⁾.

Lactancia materna

El efecto protector de la lactancia materna contra el desarrollo de diabetes se hipotetizó por primera vez en 1984⁽³⁶⁾ y algunos estudios recientes lo soportan^(5,37). Soltesz y colaboradores⁽²⁵⁾ no encontraron diferencias significativas en la duración de la lactancia materna exclusiva, pero la proporción de niños que no reciben lactancia materna fue más alta en diabéticos. Estudios posteriores han mostrado que efectivamente existe mayor riesgo de diabetes tipo 1 en los que no reciben lactancia materna, y que la lactancia materna de duración superior a 3 meses constituye un factor protector^(4,38), hecho que no es corroborado por todos los estudios^(39,40). Los mecanismos por los cuales la lactancia materna puede proteger de diabetes son los siguientes:

- La lactancia materna suministra factores inmunes implicados en la defensa contra la infección, pudiendo proteger al niño de una infección que desencadene la autoinmunidad de la célula beta^(4,5).
- La interrupción de la lactancia materna, supone la introducción precoz de antígenos extraños, como son las proteínas de la leche de vaca⁽⁴⁾.
- La mayor ingesta calórica asociada a la lactancia artificial puede estimular la secreción de insulina y la presentación de antígenos a los linfocitos B⁽⁵⁾.
- Los péptidos intactos de la leche de vaca pueden atravesar el intestino inmaduro iniciando una respuesta inmune que tiene reacción cruzada con los antígenos de superficie de la célula beta⁽⁵⁾.

En varios estudios epidemiológicos, se ha observado una asociación entre la exposición temprana a proteínas de la leche de vaca y el riesgo de diabetes⁽⁴¹⁾, sugiriendo que la leche de vaca puede contener un factor con efecto diabetogénico⁽²⁵⁾. La fracción de la leche de vaca que puede ser diabetogénica es controvertida^(4,37). Los mecanismos patogénicos de la exposición a leche de vaca pueden ser los siguientes:

- A. *La exposición a la fórmula de leche de vaca induce anticuerpos contra la insulina bovina, que tienen reactividad cruzada con la insulina humana*, lo cual puede relacionarse con el desarrollo de autoinmunidad destructiva de las células beta pancreáticas^(25,37).
- B. *Desarrollo de anticuerpos contra la albúmina sérica bovina*: Los individuos genéticamente susceptibles a diabetes pueden generar anticuerpos contra la albúmina bovina la cual tiene reactividad cruzada con la proteína de superficie de las células beta pancreáticas p69⁽⁴⁾. Dicha proteína tiene dos regiones con similitud estructural con la albúmina sérica bovina (BSA) (una de ellas un péptido de 17 aminoácidos conocido como *péptido ABBOS*), pero ninguna similitud con la albúmina humana⁽³⁵⁾.

Por lo tanto, respecto a la relación diabetes tipo 1-lactancia materna siguen existiendo controversias. En la actualidad, se están haciendo estudios prospectivos, que tratan de confirmar la relación epidemiológica entre lactancia artificial y diabetes mellitus⁽⁴²⁻⁴⁴⁾. Entre ellos destaca el *proyecto TRIGR (Trial to Reduce Insulin-dependent-diabetes in the Genetic at Risk)*⁽⁴⁴⁻⁴⁶⁾, cuyo objetivo principal es determinar si administrando una fórmula hidrolizada durante los 6-8 primeros meses de vida como complemento de lactancia materna o como lactancia artificial, en lugar de una fórmula convencional, se reduce la incidencia de diabetes en recién nacidos genéticamente susceptibles. Los resultados preliminares de los estudios piloto de TRIGR muestran que la administración de una fórmula hidrolizada conlleva una disminución de los autoanticuerpos asociados a diabetes⁽⁴⁵⁻⁴⁶⁾. En espera de los resultados de estos estudios prospectivos, en base a la controversia existente, y con el fin de prevenir la diabetes mellitus, la *Academia Americana de Pediatría* ha recomendado que durante el primer año de vida los niños reciban lactancia materna evitando la utilización de leche de vaca.

6. VITAMINA D

Varios estudios constatan que la suplementación precoz con vitamina D durante la primera infancia, tiene un efecto protector sobre el desarrollo de diabetes tipo 1^(47,48). En Noruega se ha realizado un estudio que demuestra que la administración de aceite de hígado de bacalao (rico en vitamina D) a madres gestantes, reduce significativamente la incidencia de diabetes en sus hijos⁽⁴⁹⁾. Otros estudios han demostrado que el aceite de hígado de bacalao puede reducir el riesgo de diabetes tipo 1 si se administra durante el primer año de vida, pero quizás no solamente a través de la vitamina D, sino debido a los efectos antiinflamatorios de los ácidos grasos de cadena larga que contiene⁽⁵⁰⁾.

Algunos trabajos indican que la vitamina D actúa a través de su receptor⁽⁵¹⁾. Se ha sugerido que los polimorfismos de dicho receptor estarían implicados en el desarrollo de diabetes, existiendo resultados contradictorios^(52,53).

7. INFECCIONES

Las infecciones virales se encuentran entre los principales sospechosos de desencadenantes ambientales^(12,54). Se ha encontrado una mayor asociación con infecciones en los 3 meses previos al diagnóstico de diabetes, siendo este hecho más llamativo en niños mayores⁽⁵⁾. Debe tenerse en cuenta que los grupos de edad sobre los que incide la diabetes, lo son así mismo de alta incidencia de infecciones víricas. Por tanto el hecho de hallar títulos elevados para determinados virus puede carecer de valor⁽³⁾.

Los mecanismos por los que los virus contribuyen a la destrucción de las células beta son desconocidos. Los estudios en modelos animales han llevado a identificar varios mecanismos por los cuales un virus puede iniciar el trastorno:

- *Acción citolítica directa del virus sobre la célula beta:* El virus infectante tiene tropismo por las células de los islotes y causa una citolisis directa de las mismas, lo cual lleva a su destrucción y a la diabetes⁽⁵⁴⁾.
- *Mecanismo de estrés:* Es posible que la infección represente un estrés no específico, incrementando los requerimientos de insulina y precipitando la hiperglucemia^(3,5).

- *Mimetismo molecular o fenómeno de homología peptídica.* Determinadas secuencias víricas presentadas al sistema inmune son similares o idénticas a secuencias propias⁽⁴³⁾. El reconocimiento de secuencias víricas extrañas como tales conduciría a un proceso contra estructuras propias similares.
- *Alteración del sistema inmune fetal:* Alguna infección prenatal produciría una alteración del sistema inmune fetal⁽⁵⁵⁾.
- *Generación de células T específicas y reacción cruzada con las células*⁽⁵⁴⁾.
- *Infección persistente de la célula beta por un agente no lítico, que activa la respuesta inmune contra la propia célula beta:* Se produciría un ataque inmunológico contra los antígenos víricos expresados en la superficie de membrana de las células beta, con la consiguiente destrucción de la misma⁽⁵⁴⁾.

8. CONSUMO DE CAFÉ Y AZÚCAR

Los países nórdicos de Europa, son los que tienen una mayor incidencia de diabetes y curiosamente también tienen el mayor consumo de café del mundo. La cafeína puede ser un factor de riesgo intraútero para el desarrollo de diabetes. Es bien conocida su capacidad de atravesar la placenta y llegar al feto, pudiendo causar efectos no deseados y acumularse en tejidos fetales, especialmente en el hígado y en el cerebro^(56,57). Los mecanismos por los que se especula que el café tiene relación con la diabetes son los siguientes:

- Concentraciones elevadas de cafeína o de sus metabolitos, tienen efectos adversos en el desarrollo intrauterino de los islotes pancreáticos en fetos genéticamente susceptibles.
- La cafeína incrementa la secreción de catecolaminas, lo cual lleva a la subsiguiente estimulación de la célula beta, pudiendo ocurrir una hiperexpresión de autoantígenos. Posteriormente, se ha planteado la cuestión de si el responsable de este incremento de riesgo era la cafeína sola, o bien el azúcar que habitualmente se añade al café para endulzarlo. Se ha encontrado correlación entre la incidencia de diabetes en menores de 15 años y la ingesta de azúcar, siendo esta última superponible a la ingesta de café.

El mayor consumo de azúcar se encontró en países del norte de Europa, siendo prácticamente la mitad en países mediterráneos y muy bajo en Japón (como vemos sigue el patrón de incidencia en los países mencionados).

9. ESTRÉS

El estrés se ha descrito como factor de riesgo, encontrándose en los meses previos al diagnóstico de la diabetes un mayor número de acontecimientos estresantes en niños diabéticos que en controles^(3,25,58-60). Otros autores encuentran que acontecimientos adversos de la vida (divorcio de los padres, enfermedades familiares, fallecimiento de familiares) durante los dos primeros años de la misma incrementan el riesgo de diabetes tipo 1. Todo ello se conoce como hipótesis de estrés de la célula beta, la cual sugiere que un número de diferentes factores pueden causar un incremento en la demanda de insulina, conduciendo a un estrés de la célula beta, el cual se convierte en una reacción autoinmune, particularmente en sujetos predispuestos⁽⁶¹⁾. Sepa y colaboradores, inciden en la especial importancia del divorcio de los padres y la violencia doméstica⁽⁶²⁾.

10. VACUNAS

Dada la relación temporal entre la frecuencia de inmunizaciones y el comienzo de algunos trastornos crónicos infantiles, no es sorprendente la especulación que intenta unir dichos trastornos y las vacunaciones, hablándose sobre todo de un incremento de diabetes y autismo, tras la generalización de las mismas⁽⁶³⁾. Estudios con estadística reducida han sugerido una posible relación entre comienzo de diabetes e inmunizaciones. Así, Classen y colaboradores describen que la vacunación se asocia con aumento de riesgo de diabetes de 2 a 4 años tras la misma⁽⁶⁴⁻⁶⁵⁾. Sin embargo estos hallazgos no son apoyados por exámenes epidemiológicos más rigurosos⁽⁶⁶⁻⁶⁸⁾. En una publicación reciente del Departamento de Investigación Epidemiológica del Instituto Estatal Serum en Copenhague-Dinamarca, se evalúa la relación entre diabetes tipo 1 y las vacunas rutinarias en una cohorte nacional con seguimiento longitudinal prospectivo que comprende los niños nacidos en Dinamarca

entre 1990-2000⁽⁶⁹⁾. Los autores concluyen que no existe relación causal entre vacunación infantil y diabetes. El desarrollo de diabetes tipo 1 en niños predispuestos genéticamente (definidos como hermanos de diabéticos), no se asocia de forma significativa a vacunaciones. Además no hubo evidencia de ninguna agrupación de casos de 2 a 4 años después de la inmunización con ninguna vacuna.

11. TÓXICOS

Es posible que la etiología de la diabetes esté relacionada con sustancias tóxicas^(4,5). La acción diabetógena experimental de la estreptozotocina, del alloxan y del raticida VACOR es conocida desde hace años. Así mismo, se sabe que las nitrosaminas son tóxicas para la célula beta, reduciendo su contenido en NAD.

BIBLIOGRAFÍA

- Rodríguez Hierro F, Torres ML. Diabetes mellitus (I). Estudio general. En: Argente Oliver J, Carrascosa Lezcano A, Gracia Bouthelier R, Rodríguez Hierro F. Tratado de Endocrinología Pediátrica y de la Adolescencia. Doyma, 2000: 1203-36.
- Diabetes Epidemiology Research International. Preventing insulin dependent diabetes: the environmental challenge. *Br Med J* 1987; 295: 479-81.
- Goday A, Castell C, Tresserras R, Cano JF, Lloveras G. Epidemiología de la diabetes mellitus tipo I. *Endocrinología* 1992; 39(2): 26-40.
- David G, Leslie D, Elliott R. Early Environmental events as a cause of IDDM. Evidence and implications. *Diabetes* 1994; 43: 843-50.
- Verge C, Howard N, Irwig L, Simpson J, Mackerras D, Silink M. Environmental factors in childhood IDDM. *Diabetes Care* 1994; 17 (12): 1381-9.
- Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe. EURODIAB ACE Study Group. *Lancet* 2000; 355: 873-6.
- Onkamo P, Väänänen S, Karnoven M, Tuomilehto J. Worldwide increase in incidence of type I diabetes- the analysis of the data on published incidence trends. *Diabetología* 1999; 42: 1395-403.
- Karnoven M, Pitkaniemi M, Pitkaniemi J, Kohtamäki K, Tajima N, Tuomilehto J. Sex difference in the incidence of insulin-dependent diabetes mellitus: an analysis of the recent epidemiological data. *Diabetes/Metab. Rev.* 1997; 13(4): 275-91.
- Giralt P, Santillana L, Madrigal D, Merlo A, Toledo B, Anaya F. Incidencia en menores de 16 años y prevalencia de la diabetes mellitus tipo 1A en la provincia de Ciudad Real. *An Esp Pediatr* 2001; 55: 213-8.

10. Vaandrager GJ, Bruining GJ, Veenlof FJ, Drayer NM. Incidence of childhood diabetes in the Netherlands: a decrease from north to south over northern-western Europe? *Diabetologia* 1984; 27: 203-6.
11. The rise of childhood type 1 diabetes in the 20th century. *Diabetes* 2002; 51: 3353-61.
12. Stene L, Barriga K, Norris J, Hoffman M, Klingensmith G, Erlich H et al. Symptoms of common maternal infections in pregnancy and risk of islet autoimmunity in early childhood. *Diabetes Care* 2003; 26: 3136-41.
13. Levitsky L. Childhood immunizations and chronic illness. *N Engl J Med* 2004; 350 (14): 1380-1.
14. Siemiatycki J, Colle E, Campbell S, Dewar R, Belmonte M. Case-control study of IDDM. *Diabetes Care* 1989; 12: 209-16.
15. Kaila B, Taback SP. The effect of day care exposure on the risk of developing type 1 diabetes: a meta-analysis of case-control studies. *Diabetes Care* 2001; 24: 1353-8.
16. The EURODIAB Substudy 2 Study Group: Infections and vaccinations as risk factors for childhood type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: a multicentre case-control investigation. *Diabetologia* 2000; 43: 47-53.
17. Dahlquist G, Patterson C, Soltész G. Perinatal risk factors for childhood type 1 diabetes in Europe. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. *Diabetes Care* 1999; 22: 1698-1702.
18. McKinney PA, Parslow R, Gurney KA, Law GR, Bodansky HJ, Williams R. Perinatal and neonatal determinants of childhood type 1 diabetes: a case-control study in Yorkshire, U.K. *Diabetes Care* 1999; 22: 928-32.
19. Hyoty H, Hiltunen M, Knip M, Laakkonen M, Bäsalo P, Kargalanne J et al. A prospective study of the role of coxsackie B and other enterovirus infections in the pathogenesis of IDDM: The Childhood Diabetes in Finland (DiMe) Study group. *Diabetes* 1995; 44: 652-7.
20. Dalquist GG, Boman JE, Soto P. Enteroviral RNA and IgM antibodies in early pregnancy and risk for childhood onset IDDM in offspring. *Diabetes Care* 1999; 22: 364-5.
21. Dalquist GG, Frick G, Ivarsson SA, Svanberg L, Forsgren M, Diderholm G. Indications that maternal coxsackie B virus infection during pregnancy is a risk factor for childhood onset IDDM. *Diabetologia* 1995; 38: 408-13.
22. Dalquist G, Ivarsson S, Lindberg B, Forsgren M. Maternal enteroviral infection during pregnancy as a risk factor of childhood IDDM: a population based case-control study. *Diabetes* 1995; 44: 408-13.
23. Graves PM, Norris JM, Pallansch MA, Gerling IC, Rewers M. The role of enteroviral infections in the development of IDDM. *Diabetes* 1997; 46: 161-8.
24. Viskari HR, Roivainen M, Reunanen A, Pitkaniemi J, Sadeharju K, Koskela P, et al. Maternal first trimester enterovirus infection and future risk of type 1 diabetes in the exposed fetus. *Diabetes* 2002; 51: 2568-71.
25. Soltész G, Jeges S, Dahlquist G and the Hungarian Childhood Diabetes Epidemiology Study Group. Non-genetic risk determinants for type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus in childhood. *Acta Paediatr* 1994; 83: 730-5.
26. Stene L, Barriga K, Norris J, Hoffman M, Erlich H, Eisenbarth G, et al. Perinatal factors and development of islet autoimmunity in early childhood. *Am J Epidemiol* 2004; 160: 3-10.
27. Bache I, Bock T, Volund A, Buschard K. Previous maternal abortion, longer gestation and younger maternal age decrease the risk of type 1 diabetes among male offspring. *Diabetes Care* 1999; 22 (7): 1063-5.
28. Blom L, Dalquist G, Nystrom L, Sandstrom A, Wall S. The Swedish childhood diabetes study: Social and perinatal determinants for diabetes in childhood. *Diabetologia* 1989; 32: 7-13.
29. Lawler-Heavner J, Cruickshanks KJ, Hay WW, Gay EC, Hamman RF. Birth size and risk of insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 1994; 24: 153-9.
30. Bock T, Pedersen CR, Volund A, Pallesen CS, Buschard K. Perinatal determinants among children who later develop IDDM. *Diabetes Care* 1994; 17: 1154-7.
31. Kyvik KO, Bache I, Green A, Beck-Nielsen H, Buschard K. No association between birth weight and type 1 diabetes mellitus: A twin-control study. *Diabet Med* 2000; 35: 873-6.
32. Stene L, Magnus P, Lie R, Sovik O, Joner G and the Norwegian Childhood Diabetes Study Group. Birth weight and childhood onset type 1 diabetes: population based cohort study. *BMJ* 2001; 34: 889-92.
33. McKinney PA. Seasonality of birth in patients with childhood type 1 diabetes in 19 European regions. *Diabetologia* 2001; 44: B67-B74.
34. Wahlberg J, Fredriksson J, Nikolic E, Vaarala O, Ludvigsson J, The ABIS-Study Group. Environmental factors related to the induction of beta-cell autoantibodies in 1-yr-old healthy children. *Pediatric Diabetes* 2005; 6: 199-205.
35. Kostuba J. What can epidemiology tell us about the role of infant diet in the etiology of IDDM? *Diabetes Care* 1994; 17(1): 87-91.
36. Borch-Johnsen K, Jone G, Mandrup-Poulsen T, Christy M, Zachau-Christiansen B, Kastrup K et al. Relation between breast feeding and incidence rate of insulindependent diabetes mellitus: A hypothesis. *Lancet* 1984; 11: 1083-6.
37. Vaarala O, Knip M, Paronen J, Hämäläinen A, Muona P, Väättäinen M et al. Cow's milk formula feeding induces primary immunization to insulin in infants at genetic risk for type 1 diabetes. *Diabetes* 1999; 48: 1389-94.
38. Wasmuth HE, Kolb H. Cow's milk and immune-mediated diabetes. *Proc Nutr Soc* 2000; 59(4): 573-9.
39. Schrenzeimer J, Jagla A. Milk and diabetes. *J Am Coll Nutr* 2000; 19 (Supl 2): 1765-905.
40. Couper JJ, Steele C, Beresford S, Powell T, McCaul K, Pollard A. Lack of association between duration of breast-feeding or introduction of cow's milk and development of islet autoimmunity. *Diabetes* 1999; 48 (11): 2145-9.
41. Virtanen SM, Laara E, Hyppönen E, Reijonen H, Rasanen L, Aro A. Cow's milk consumption, HLA-DQB1 genotype, and type 1 diabetes: a nested case-control study of siblings of children with

- diabetes. Childhood Diabetes in Finland Study Group. *Diabetes* 2000; 49(6): 912-7.
42. Gerstein HC. Cow's milk exposure and type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1994; 17: 13-9.
 43. Fava D, Leslie RDG, Pozzili P. Relationship between dairy product consumption and incidence of IDDM in childhood in Italy. *Diabetes Care* 1994; 17: 1488-90.
 44. Virtanen SM, Salonen M, Savilahti E. Feability of randomised double-blind trial aiming at avoidance of cow's milk in infancy: the TRIGR project. *Diabetes Res Clin Pract* 1999; 44: S7.
 45. Paronen J, Knip M, Savilahti E, Virtanen SM, Ilonen J, Akerblom H et al (The Finish Trial to Reduce IDDM in the Genetically at Risk Study Group). Effects of cow's milk exposure and maternal type 1 diabetes on cellular and humoral immunization to dietary insulin in infants at genetic risk for type 1 diabetes. *Diabetes* 2000; 49: 1657-65.
 46. [Http://www.trigr.org/centres.html](http://www.trigr.org/centres.html)
 47. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. Vitamin D supplement in early childhood and risk for type 1 diabetes mellitus. *Diabetologia* 1999; 42: 51-4.
 48. Hypponen E, Laara E, Reunanen A, Jarvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth cohort study. *Lancet* 2001; 358: 1500-3.
 49. Stene LC, Ulriksen J, Magnus P. Use of cod liver oil during pregnancy associates with lower risk of type 1 diabetes in the offspring. *Diabetologia* 2000; 43: 1093-8.
 50. Stene LC, Joner G, Norwegian Childhood Diabetes Study Group. Use of cod liver oil during the first year of life is associated with lower risk of childhood-onset type 1 diabetes: a large, population-based, case-control study. *Am J Clin Nutr* 2003; 78 (6): 1128-34.
 51. Nejentsev S, Cooper J, Godfrey L, Howson F, Rance H, Nutland S et al. Analysis of the vitamin D receptor gene sequence variants in type 1 diabetes. *Diabetes* 2004; 53: 2709-12.
 52. Turpeinen H, Hermann R, Vaara S, Laine AP, Simell O, Knip M et al. Vitamin D receptor polymorphisms: no association with type 1 diabetes in the Finnish population. *Eur J Endocrinol* 2003; 149 (6): 591-6.
 53. Motohashi Y, Yamada S, Yanagawa T, Maruyama T, Suzuki R, Fukazawa T et al. Vitamin D receptor gene polymorphism affects onset pattern of type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88 (7): 3137-40.
 54. Flodström M, Tsai D, Fine C, Maday A, Sarvetnick N. Diabetogenic potential of human pathogens uncovered in experimentally permissive b-cells. *Diabetes* 2003; 52: 2025-32.
 55. Graves PM, Norris JM, Pallansch MA, Gerling IC, Rewers M. The role of enteroviral infections in the development of IDDM and current approaches. *Diabetes* 1997; 46: 161-8.
 56. Pozzili P. Coffee or sugar, which is to blame in IDDM. *Diabetes Care* 1991; 14: 144-5.
 57. Tuomilehto J. Coffee consumption as trigger for insulin dependent diabetes in childhood. *BMJ* 1990; 300: 642-3.
 58. Thernlung G, Dalquist G, Hansson K, Ivarsson K, Ivarsson SA, Ludvigsson J et al. Psychological stress and the onset of IDDM in children. *Diabetes Care* 1995; 18(10): 1323-9.
 59. Hägglog B, Blom L, Dalquist G, Lönnberg G, Sahlin B. The Swedish Childhood Diabetes Study. Indications of severe psychologic stress as a risk factor for type 1 diabetes mellitus in childhood. *Diabetologia* 1991; 34: 579-83.
 60. Robinson N, Lloyd CE, Fuller J, Yateman NA. Psychosocial factors and the onset of type 1 diabetes. *Diabetic Med* 1989; 6: 53-8.
 61. Sepa A, Frodi A, Ludvigsson J. Mothers' experiences of serious life events increase the risk of diabetes-related autoimmunity in their children. *Diabetes Care* 2005; 28: 2394-99.
 62. Sepa A, Wahlberg J, Vaarala O, Frodi A, Ludvigsson J. Psychological stress may induce diabetes-related autoimmunity in children. *Diabetes Care* 2005; 28: 290-5.
 63. Levitsky L. Childhood immunizations and chronic illness. *N Engl J Med* 2004; 350 (14): 1380-1.
 64. Classen JA, Classen DC. Clustering of cases of insulin dependent diabetes (IDDM) occurring three years after hemophilus influenzae B (Hib) immunization support causal relationship between immunization and IDDM. *Autoimmunity* 2002; 35: 247-53.
 65. Classen JA, Classen DC. Clustering of cases of type 1 diabetes mellitus occurring 2-4 years after vaccination is consistent with clustering after infections and progression to type 1 diabetes mellitus in autoantibody positive individuals. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2003; 16: 495-508.
 66. Bloom L, Nystrom L, Dalquist G. The Swedish childhood diabetes study: vaccination and infections as risk determinants for diabetes in childhood. *Diabetologia* 1991; 34: 176-81.
 67. Diabetes Study Group. Infections and vaccinations as risk factors for childhood type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: a multicentre case-control investigation. *Diabetologia* 2000; 43: 47-53.
 68. Destefano F, Mullooly JP, Okoro LA. Childhood vaccinations, vaccination timing, and risk of type 1 diabetes mellitus (Abstract). *Pediatrics* 2001; 108: 1360.
 69. Hviid A, Stellfeld M, Wohlfahrt J, Melbye M. Childhood Vaccination and type 1 diabetes. *N Engl J Med* 2004; 350: 1398-404.