

Inmunopatogenia de la diabetes mellitus tipo 1

Immunopathology of the diabetes mellitus type 1

Carolina Díaz Gallardo¹, M. Antonieta Guzmán²

¹ Residente Programa de Inmunología Clínica, Escuela de Posgrado, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. ² Médica Inmunóloga, Jefe Sección Inmunología y Alergias, Hospital Clínico Universidad de Chile

Dra. María Antonieta Guzmán. Santos Dummont 999, Independencia, Santiago, Chile. Fono: 56-2-9788567, Fax: 56-2-7375916

e-mail: mguzman@redclinicauchile.cl

ARCHIVOS DE ALERGIA E INMUNOLOGÍA CLÍNICA 2008;39(4):151-160

Resumen

La diabetes mellitus tipo 1 (DM-1) es el resultado de la destrucción de las células β pancreáticas secundaria a un proceso autoinmune específico. Los autoantígenos, macrófagos, células dendríticas (DCs), linfocitos B y T han demostrado estar involucrados en la patogénesis de la DM-1. Los autoantígenos son liberados desde las células β , secundarios a un recambio o daño celular, siendo éstos procesados y presentados a las células T helper por las células presentadoras de antígenos. Los macrófagos y las DCs son las primeras en infiltrar los islotes pancreáticos. Los linfocitos TCD4+ vírgenes circulantes y ubicados en los linfonodos, incluyendo los pancreáticos, pueden reconocer el complejo mayor de histocompatibilidad y los péptidos presentados por las DCs y macrófagos en los islotes. Estos LTCD4+ pueden ser activados por la interleuquina (IL)-12 liberada desde los macrófagos y DCs. Mientras este proceso ocurre, LTCD8+ específicos de células β son activados por la IL-2 producida por los LTH1 CD4+ activados, diferenciándose en LT citotóxicos, los que son reclutados en los islotes pancreáticos. Éstos, junto con los LTH1 CD4+ T activados, están involucrados en la destrucción de las células β . Adicionalmente, las células β son dañadas por granzimas y perforinas liberadas desde los LTCD8+ citotóxicos y por los distintos mediadores solubles, como citoquinas y moléculas reactivas derivadas del oxígeno, liberados desde macrófagos activados a nivel de los islotes. Es así como los macrófagos activados, los LTH1 CD4+ y CD8+ actúan sinérgicamente destruyendo las células β , desencadenando la DM-1.

Palabras claves: inmunopatogenia, diabetes mellitus autoinmune, linfocitos T, macrófagos, células dendríticas, autoantígenos, células β .

Abstract

Type 1 diabetes results from the destruction of pancreatic β cells by a specific autoimmune process. β cell autoantigens, macrophages, dendritic, B and T cells have been shown to be involved in the pathogenesis of diabetes mellitus 1. The autoantigens are released from β -cells by cellular turnover or damage and are processed and presented to T helper cells by antigen-presenting cells. Macrophages and dendritic cells (DCs) are the first cell types to infiltrate the pancreatic islets. Naive CD4+ T cells that circulate in the blood and lymphoid organs, including the pancreatic lymph nodes, may recognize major histocompatibility complex and β -cell peptides presented by dendritic cells and macrophages in the islets. These CD4+ T cells can be activated by interleukin (IL)-12 released from macrophages and DCs. While this process takes place, β cell antigen-specific CD8+ T cells are activated by IL-2 produced by the activated TH1 CD4+ T cells, differentiate into cytotoxic T cells and are recruited into the pancreatic islets. These activated TH1 CD4+ T cells and CD8+ cytotoxic T cells are involved in the destruction of β cells. In addition, β cells can also be damaged by granzymes and perforin released from CD8+ cytotoxic T cells and by soluble mediators such as cytokines and reactive oxygen molecules released from activated macrophages in the islets. Thus, activated macrophages, TH1 CD4+ T cells, and cell-cytotoxic CD8+ T cells act synergistically to destroy β cells, resulting in type 1 diabetes.

Key words: immunopathology, autoimmune diabetes mellitus, T cells, macrophages, dendritic cells, auto-antigens, β cells

Introducción

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad compleja, caracterizada por una deficiencia absoluta o relativa de insulina, que determina hiperglucemia, y por una alteración

en el metabolismo de la glucosa, proteínas y lípidos. Estas disfunciones metabólicas se asocian patológicamente con complicaciones en la macrovasculatura y la microvasculatura, secundarias al acelerado proceso de aterosclerosis [1]. La DM corresponde a un **grupo de patologías** con base

genética, clínicamente muy heterogéneas. Éstas fueron clasificadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en cuatro grupos, sobre la base de la patogenia y los requerimientos de insulino-terapia: DM tipo 1 (DM-1), DM tipo 2 (DM-2), diabetes gestacional y diabetes secundaria a otras condiciones [1].

Aproximadamente, el 85% de los casos corresponden a **DM-2**; la que se presenta predominantemente en adultos y es el resultado de un mal funcionamiento o defectos en la utilización de glucosa en distintos tejidos [2]. En contraposición, la **DM-1** se inicia clásicamente durante la niñez, correspondiendo a una patología de tipo autoinmune, órgano-específica, caracterizada por la destrucción progresiva de las células β pancreáticas (mediada por células inmunes) y que finalmente determina la dependencia absoluta de aportes externos de suplementación de insulina [1].

Epidemiología

La DM-1 es una de las enfermedades crónicas más frecuentes durante la pubertad. Se presenta principalmente en individuos caucásicos; la mayor incidencia corresponde a Finlandia (>40 por 100 mil personas/año), seguido de Cerdeña (>30 por 100 mil personas/año), mientras que Corea, Japón y China poseen la menor incidencia (0,7 por 100 mil personas/año) [3]. Estas diferencias no sólo se explican por las obvias diferencias genéticas, sino que son el resultado de la combinación de estos factores con los de tipo ambiental.

Clasificación de las DM-1

Debemos considerar a la DM-1 como una enfermedad heterogénea, que se subdivide en dos subgrupos: la **DM-1A o inmuno-mediada** y la **DM-1B o idiopática**. El 80% de los pacientes pertenece al primer grupo, cuyo diagnóstico se basa en la detección de autoanticuerpos contra múltiples autoantígenos presentes en las células β ubicadas en los islotes pancreáticos [4]. Es importante recordar que el páncreas está compuesto por dos tejidos diferentes; la mayor parte está constituida por tejido exocrino, conformado por células acinares pancreáticas secretoras de enzimas liberadas en el intestino para facilitar la digestión de los alimentos. Dispersos por todo el tejido exocrino existen varios grupos de células endocrinas, conocidas como **islotes de Langerhans**. En el islote, las **células α** producen glucagón; las **células β** , insulina; las **células γ** , somatostatina, y las **células δ** , polipéptido, todos los cuales son liberados a la circulación general.

Un número creciente de autoanticuerpos (ac.) antiislotes han sido descritos; aquéllos que han demostrado ser relevantes en el diagnóstico son los ac. **antidecarboxilasa del ácido glutámico (GAD)**, ac. **anti antígeno 2 asociado con insulino-ma (IA-2)** y los ac. **antiinsulina (IAA)**. La detec-

ción de al menos uno de éstos avala un proceso autoinmune en curso; sin embargo, su ausencia no excluye el diagnóstico, clasificándose esta diabetes como idiopática.

Historia natural de la DM-1

La DM-1 se caracteriza por presentar una disminución progresiva de la secreción endógena de insulina, lo que determinará en el largo plazo deficiencia total de esta hormona. La pérdida de la tolerancia inmunológica a las células β es un proceso constante, con destrucción sucesiva de las células productoras de insulina [3]. Inicialmente, la disminución de la capacidad secretora de insulina es asintomática, pero pueden detectarse distintos ac. antiislotes ya en **fase preclínica** [3]; esta respuesta inmune (RI) específica puede iniciarse incluso en el período fetal o perinatal, persistiendo durante semanas, meses e incluso años, antes del inicio de la fase sintomática. Este período es especialmente prolongado en los pacientes con un particular subtipo de enfermedad, denominada **LADA** (*latent autoimmune diabetes in adults*). La **fase clínica** se presenta luego de la destrucción de al menos el 90% de los acinos pancreáticos [1].

Genética de la DM-1

Si bien la etiología de la DM-1 está sólo parcialmente caracterizada, se reconoce la participación de factores genéticos y ambientales en su desarrollo. Diversos estudios han demostrado que loci de las moléculas **HLA-II** se asocian fuertemente con el riesgo de desarrollar DM-1, dando cuenta de cerca del **40-50% de agregación familiar** descrita para esta patología [1,3,6]. Esta región de genes HLA es denominada de forma colectiva como **IDDM1**.

Los **haplotipos predisponentes** más comunes en la población caucásica son HLA-DRB1, HLA-DQB1 y HLA DQA1 [6]; sin embargo, más de 20 genes predisponentes ya han sido identificados, pertenecientes tanto a *genes HLA clásicos*, *HLA no clásicos*, como **no-HLA** (Tabla 1) [1,3,7-9].

Una de las explicaciones de esta asociación es que se ha evidenciado **mimetismo molecular** entre el HLA-DQ β y secuencias de los autoantígenos ICA-512/IA-2, lo que desencadena la patología en individuos genéticamente susceptibles. La presentación de estos péptidos a nivel tímico produce la selección positiva de LTCD4 potencialmente autorreactivos. Además, una infección viral, por ejemplo por Coxsackie-virus, que presenta epítopes similares, pueden facilitar la expansión clonal precipitando, de este modo, el proceso autoinmune [3].

Recientes estudios de la región HLA demuestran que los genes pueden influir no solo en la iniciación del proceso autoinmune, sino también en etapas más tardías de la enfermedad, determinando la tasa de destrucción de las células β y la edad a la cual la patología se desarrolla [3].

Tabla 1. Loci IDDM para la DM-1. Además de los genes HLA y no-HLA incluidos en esta tabla, otros genes descritos incluyen el gen de PTPN22 (cromosoma 1p13) y el de la IL-18 (cromosoma 11q22).

IDDM	Locus	Gen candidato
IDDM1	6q21.3	HLA-II
IDDM2	11p15	VNTR de la insulina
IDDM3	15q26	
IDDM4	11q13	LDL-receptor-related protein 5
IDDM5	6q25	SUMO 4
IDDM6	18q12-q21	
IDDM7	2q31-q33	
IDDM8	6q27	
IDDM9	3q22-q25	CD80 o CD86
IDDM10	10p11-q11	
IDDM11	14q24-q31	
IDDM12	2q33	CTLA-4
IDDM13	2q34	
IDDM14	-	
IDDM15	6q21	
IDDM16	14q32.3	
IDDM17	10q25	
IDDM18	5q31-q33	IL-12p40

Por su parte, los haplotipos DRB1*1501-DQB1*0602 confieren una fuerte **protección** contra el desarrollo de la enfermedad [3]. Éstos se encuentran en <1% de los niños diabéticos, en contraposición al 20% de la población general [6]. Es importante mencionar que los **alelos predisponentes** están asociados con la activación principalmente de los LT helper tipo 1 (**LTh1**) y la respuesta celular citotóxica, mientras que los **alelos protectores** están asociados con la estimulación de los LT helper tipo 2 (**LTh2**) [3].

Factores ambientales involucrados en la DM-1

La concordancia incompleta en la incidencia de la enfermedad DM-1 entre gemelos monocigotos claramente sugiere la participación de factores ambientales en su patogenia. La hipótesis más aceptada sobre el quiebre de la autotolerancia es la participación de un **agente viral**, el cual jugaría un rol catalítico en este proceso. Sin embargo, el rol de otros factores ambientales no puede ser excluido.

Agentes infecciosos

Diversos virus han sido implicados en el proceso patogénico, dado que comparten epítopes aminoacídicos con proteínas específicas de las células β . Por ejemplo, existen similitudes entre el **virus coxsackie** (proteína P2C) y **GAD65**, el **citomegalovirus** y la **proteína mayor unidora de DNA**, el **rotavirus** e **IA-2** y la **rubéola** y el **antígeno de 52 kDa** [3,10,11].

La infección viral conduce a la presentación de péptidos virales a los LTCD8 en el contexto de moléculas HLA-I, mientras que las células presentadoras de antígenos (CPA) fagocitan viriones y presentan péptidos virales a los LTCD4 en el contexto de moléculas HLA-II. Los LTh secretan distintas citoquinas (IL-1, IL-2, IFN- γ , TNF- α y β), las que estimulan el efecto citotóxico de los LTCD8. Sin embargo, la RI contra estas proteínas afecta también a péptidos presentes en las células β (**mimetismo molecular**), determinando su destrucción citotóxica.

Por otro lado, **virus pancreatotrópicos**, como enterovirus y el de la parotiditis, pueden **afectar directamente a las células β** . La infección de los islotes pancreáticos hace **accesible epítopes** normalmente expresados en las células β , pero inaccesibles para la RI (dado la existencia de la barrera endotelial). Estos agentes virales también pueden **modular el procesamiento antigénico** (por ejemplo, inducen proteasas celulares), lo cual devela **epítopes crípticos** que finalmente se convierten en targets para LT específicos. Este mecanismo daría cuenta del incremento del pool de autoantígenos provenientes de los islotes pancreáticos. Así, las células β infectadas son susceptibles de ser atacadas por LT citotóxicos con acción antiviral y también por macrófagos [3].

Agentes químicos

Drogas como la **estreptozocina** (medicamento habitualmente utilizado en el cáncer de islotes) y la **pentamidina** poseen acción citotóxica directa sobre las células β , causando diabetes tanto en animales de experimentación como en humanos [12].

Factores dietarios

Constituyentes alimentarios también han sido asociados al desarrollo de DM-1. Entre ellos, se ha descrito que la **leche de vaca** acelera la aparición de la enfermedad en crías de ratones NOD (ratones no obesos propensos al desarrollo de DM) y BB (Bio-Breeding) [12]. El mecanismo subyacente sería la existencia de **mimetismo molecular** entre un péptido de 17 aminoácidos de la albúmina sérica bovina (péptido ABBOS) y el antígeno 69 de las células de los islotes. A pesar de que existe una fuerte correlación entre naciones con alto consumo de leche de vaca y la incidencia de diabetes en niños, el papel de ésta en la patogenia de la DM-1 en humanos resulta aún controversial. Recientemente se ha informado también que la incidencia de DM-1 en niños se correlaciona directamente con el promedio de ingesta diaria de **carne de vacuno** (la cual contiene albúmina sérica) y es inversamente proporcional a la ingesta de alimentos vegetales [13].

Compuestos nitrogenados, derivados de la conversión de los nitratos provenientes de verduras y carne a nivel intestinal, se han involucrado en el desarrollo de la enfermedad. Aunque varios estudios indican que existe una rela-

ción entre la ingesta de nitratos y la incidencia de DM-1, todavía se requiere nuevas investigaciones [13].

Algunos estudios sugieren la existencia de una correlación entre la administración de suplementos de vitamina D en la primera infancia y el riesgo de DM-1. En este sentido, recientemente se ha descrito un **polimorfismo en los receptores de la vitamina D** con consecuencias funcionales, que se asocia al desarrollo de esta enfermedad. Este polimorfismo se relaciona con los niveles de RNAm y de proteínas de los receptores de la vitamina D, así como con la capacidad secretora de insulina. La forma activa de vitamina D3 es un potente modulador de la diferenciación y maduración de las DCs, causando la redirección a DCs antiinflamatorias (*down-regulation* o regulación negativa de la expresión de HLA-II en DCs y menor activación LT), capaces de alterar la producción de citoquinas pro-inflamatorias (Th1). En conjunto, estos datos proporcionan pruebas de que la alteración de los receptores de la vitamina D3 es un factor asociado con el riesgo de desarrollar DM-1 [10].

Mecanismos inmunológicos involucrados en la pérdida de células pancreáticas

En términos generales, y para presentar una visión general, podemos decir que la activación del SI celular en individuos genéticamente susceptibles determina la infiltración linfocítica de los islotes pancreáticos (insulinitis), así como también la activación de una respuesta de tipo humoral, con producción de autoanticuerpos contra uno o más autoantígenos derivados de las células β .

La destrucción de los islotes es gatillada por el desarrollo de LT fenotípicamente cada vez más agresivos y por un desbalance en la relación Th1-Th2, con predominio de Th1. Sin embargo, actualmente se ha demostrado cierta asociación patogénica con otra subpoblación Th, Th17 [10,12-14]. Una vez destruido cerca del 80-90% de los islotes, se desencadena la sintomatología. Últimamente se ha detectado regeneración de islotes al inicio de la enfermedad, lo que explicaría el fenómeno conocido como **luna de miel** (caída transitoria en el requerimiento de insulina asociado a una mejoría en la función de las células β) [12].

Como es bien conocido, existen mecanismos involucrados en la mantención de la tolerancia periférica, como la presencia de LT reguladores CD4+CD25+Foxp3+, los que son capaces de controlar la función de los LTCD4 y CD8. Se ha observado alteraciones a este nivel en pacientes con DM-1 [1].

A continuación se analizará en profundidad cada uno de los componentes de la RI antiislotes pancreáticos.

Rol de los LB y autoanticuerpos en la patogenia de la DM-1

En los últimos años se ha incrementado el interés por estudiar las funciones de los LB y los autoanticuerpos en la pa-

togenia de esta enfermedad [15]. Los autoanticuerpos han sido asociados con DM-1 desde hace mucho tiempo; de hecho, el reconocimiento del rol fundamental del SI en la patogenia de esta enfermedad estuvo basado en la detección de éstos, estando presentes ya en los estados prediabéticos y en los pacientes con diagnóstico reciente. Es así como se ha logrado demostrar que la presencia de **autoanticuerpos** es el **mejor marcador de un proceso autoinmune** en curso y, además, la **mayor herramienta predictora** de una futura DM-1 [15]. Sin embargo, estos anticuerpos **no son patogénicos** en sí mismos; no reaccionan contra la superficie celular o antígenos de la matriz, como ocurre en la anemia hemolítica autoinmune o en el púrpura trombocitopénica idiopática, y tampoco causan enfermedad por la formación y depósito de complejos inmunes. De hecho, es posible el desarrollo de DM-1 en pacientes con hipogammaglobulinemia de Bruton [15]. Sin embargo, si bien los autoanticuerpos pueden no ser una condición *sine qua non* para desencadenar la patología, no es posible descartar el rol de los LB en el desarrollo de DM-1 en pacientes sin deficiencias inmunológicas [15].

Autoantígenos en DM-1

Los autoantígenos identificados en humanos, ratones NOD y ratas BB incluyen epítopes de células ubicadas en los islotes pancreáticos, que poseen la característica de ser glicolípidos ricos en ácido siálico. Se destacan en este grupo la **insulina** y su **receptor**, una **proteína de 52 kDa**, una de **69 kDa**, **GAD**, **IA-2**, la proteína de shock térmico 65 (**HSP65**), la **carboxipeptidasa H**, el **transportador de glucosa** y un autoantígeno de **38 kDa** [16].

a) **GAD**. Se cree que éste es uno de los principales autoantígenos; su función es la biosíntesis del neurotransmisor inhibitorio GABA. Para determinar su rol en DM-1, se suprimió de manera selectiva su expresión en las células β de ratones NOD, lo que se tradujo en la prevención del proceso autoinmune, mientras que cualquier nivel de expresión de GAD en las células β provocó el desarrollo de DM-1. Estos resultados indican que GAD puede ser un autoantígeno desencadenante de la enfermedad, al menos, en ratones NOD [16].

b) **Insulina**. Candidato lógico como autoantígeno principal, ya que es el **único antígeno específico** derivado de las células β actualmente conocido. Algunos trabajos han comprobado que la ingesta oral de insulina retarda la progresión de la enfermedad en ratones NOD como resultado de la inducción de LT reguladores (LTreg). Por otro lado, la inyección intratímica así como la administración intranasal o subcutánea de la cadena B de la insulina en ratones NOD impide el desarrollo de esta patología. En contraposición, clones de LTCD4 específicos para la cadena B de la insulina identificados en ratones NOD aceleran la enfermedad.

c) IA-2. Éste es un recién descubierto miembro de la familia de las tirosín-fosfatasas y se considera también uno de los principales autoantígenos de la DM-1. Autoanticuerpos anti-IA-2 han sido detectados en el 70% de los individuos diabéticos.

Uso de los anticuerpos antiislotos como predictores del desarrollo y curso clínico de DM-1

Los primeros estudios realizados en parientes de primer grado de individuos diabéticos, seguidos en el tiempo, demuestran que los **autoanticuerpos antiislotos pueden predecir el desarrollo de DM-1** [17]. Sin embargo, la búsqueda para identificar el anticuerpo con la mejor capacidad predictora de enfermedad ha fracasado, porque, hasta el momento, se desconoce el orden de aparición de éstos. Por el contrario, varios estudios sugieren que el **número de autoanticuerpos** circulantes es **mucho mejor predictor** que el orden de aparición [18]. Lo anterior es especialmente cierto en niños pequeños, demostrándose que tanto la **edad** como el **sexo** afectan la expresión de los autoanticuerpos antiinsulina y anti-IA-2 [19], la sensibilidad diagnóstica de estos dos autoanticuerpos disminuye al aumentar la edad; aunque IAA tienen mayor sensibilidad diagnóstica en niños menores de 10 años (50-60%), los anticuerpos anti-GAD65 permanecen constantes independiente de la edad [20].

Un gran estudio en EE.UU., the *Diabetes Prevention Trial* (DPT-1), analizó cuatro autoanticuerpos (ICA, AAI, GAD65Ab e IA-2Ab) con el fin de evaluar el riesgo de desarrollar DM-1. Se logró demostrar que el 98% de los parientes sanos de primer grado que llegaron a padecerla tenían uno o más autoanticuerpos y que el 80% de éstos tenían al menos dos. Los individuos con dos o más autoanticuerpos presentaron un riesgo de 68% en 5 años de desarrollar DM-1, mientras que el riesgo estimado con tres anticuerpos era de 100% [21].

Los anticuerpos anti-IA-2 disminuyen rápidamente al aumentar la duración de la enfermedad, lo que sucede con los anti-GAD65, éstos tienden a permanecer en títulos altos a pesar de la evidencia de que el paciente ha dejado de producir el péptido C. Esta observación es desconcertante, ya que a menudo se postula que los niveles de anticuerpos se mantienen sólo si se repite la estimulación antigénica. Lamentablemente, los anti-IAAs no pueden ser estudiados en el transcurso del tiempo, porque el desarrollo de ac. antiinsulina puede ocurrir muy rápidamente (7-10 días posinicio de terapia) [21].

En relación con el **curso clínico**, en el momento del diagnóstico clínico es importante conocer el **número de anticuerpos positivos**, ya que si un niño posee **tres o más** autoanticuerpos, tiene un **mayor ritmo de pérdida** del péptido C en comparación con aquellos que presentan sólo uno o dos [21].

Efectos de los autoanticuerpos en la presentación antigénica
Uno de los roles potenciales importantes de los **anticuerpos** en la DM-1 es su efecto sobre el **procesamiento antigénico** y la **presentación en HLA-II**. Las CPA pueden capturar el antígeno para su presentación al SI, tanto a través de mecanismos específicos como inespecíficos. Los receptores específicos de los LB y los receptores Fc de monocitos, macrófagos y células dendríticas (DCs) incrementan la eficiencia para capturar antígenos por las CPA y, por tanto, reducen el umbral para una respuesta mediada por LT [21]. Varios experimentos han demostrado que, **en presencia de autoanticuerpos, la respuesta de los LT a autoantígenos es mayor** [19]. Esto ha llevado a plantear la hipótesis de que el proceso de internalización de antígenos mediado por anticuerpos altera el transporte posendocítico y el procesamiento de ellos, resultando en la presentación de diferentes epítopes T y, potencialmente, desenmascarando antígenos crípticos, lo cual manipula la respuesta de los LT. En resumen, dependiendo de la presencia o ausencia de autoanticuerpos, la presentación de un antígeno o de un complejo antígeno-anticuerpo puede afectar la generación de una respuesta de células T patogénicas y determinar el consecuente proceso autoinmune [21]. Aunque los autoanticuerpos son una herramienta útil en la predicción, clasificación y pronóstico de la enfermedad, proporcionan limitada información sobre el proceso de la enfermedad a nivel celular. Como se mencionó, la presencia de tres autoanticuerpos proporciona el valor predictivo más alto para DM-1; sin embargo, debido a que éstos aparecen en forma sucesiva, el período de tiempo necesario para tener los tres puede ser contraproducente si nuestro objetivo es la prevención (debemos considerar que la supresión de la insulinitis tan pronto como sea posible es una de las claves para el éxito terapéutico). Un sistema de predicción basado en un solo autoanticuerpo sería, por lo tanto, beneficioso.

Isotipos de los autoanticuerpos en DM-1

Sabido es que diferentes isotipos de anticuerpos llevan a cabo diferentes funciones; por ejemplo, la IgG puede penetrar a los tejidos, activando el complemento, además de unirse a los receptores Fc en los macrófagos y células NK para inducir citotoxicidad dependiente de anticuerpos. Debido a su capacidad de activar múltiples sistemas efectores, autoanticuerpos de tipo IgG presentan un mayor riesgo que los de tipo IgM. Este riesgo es ejemplificado por el hallazgo relativamente común de autoanticuerpos de tipo IgM, pero no IgG, en sueros de individuos sanos.

Los datos que describen la participación de los diferentes isotipos en la progresión de la DM-1 son muy controvertidos. Hay informes que indican que los principales isotipos asociados a esta enfermedad son los de tipo **IgG1** e **IgG3**. Una investigación reciente exploró los isotipos en individuos genéticamente susceptibles (HLA-DQB1), eviden-

Tabla 2. Evidencias que sustentan el rol de los LT en la patogenia de la DM-1.**Evidencias que sustentan el rol de los LT en la patogénesis de la DM-1**

- Presencia de lesión inflamatoria (insulinitis).
- Retardo en la progresión de la enfermedad al utilizar fármacos inmunosupresores.
- Preservación de las células β en el inicio clínico de la patología luego de la terapia con anticuerpos monoclonales anti-CD3.
- Destrucción selectiva recurrente de las células β en el páncreas trasplantado de un gemelo monocigoto no diabético a uno diabético.
- “Transferencia adoptiva” de DM-1 en pacientes no diabéticos trasplantados de médula ósea (con depleción incompleta de LT) desde un donante diabético.
- Presencia de LT autorreactivos circulantes en individuos con DM-1.
- Concordancia entre la falla del trasplante de islotes y el incremento de los LT autorreactivos.
- Ausencia de beneficios con el uso de plasmaféresis e IGIV.
- Desarrollo de la enfermedad en pacientes con ausencia de LB y anticuerpos.

ciándose que los niños en quienes progresaba la enfermedad presentaban con mayor frecuencia anticuerpos del tipo IgG3 en comparación con los que no padecían dicha progresión [21].

La información anterior se resume en la siguiente hipótesis: la respuesta inicial preventiva, tanto en sujetos diabéticos como sanos sin riesgo de desarrollar DM-1, es de tipo IgM; luego del período inicial, la producción de autoanticuerpos en las personas diabéticas cambia a una respuesta de tipo IgG (*switch* isotípico). Por el contrario, la mayoría de los autoanticuerpos en individuos sanos no sufren este cambio de isotipo, desapareciendo durante el seguimiento.

Rol de los macrófagos en la patogenia de la DM-1

Desde hace un tiempo se conoce que las poblaciones predominantes que infiltran los islotes de ratas BB durante la primera etapa de la insulinitis son LT, células NK y LB. Sin embargo, mediante microscopía electrónica se ha revelado que la mayoría de las células corresponden a **macrófagos**, demostrándose que su inactivación en ratones NOD y ratas BB se traduce en la casi total prevención de la insulinitis y diabetes. De lo anterior lógicamente se desprende que los macrófagos juegan un papel importante en el desarrollo de insulinitis y DM-1, al menos en estos modelos animales. Además, los LT en ratones NOD carentes de macrófagos no poseen el potencial citotóxico característico, lo que nos indica que estos LT en un ambiente sin macrófagos pierden su capacidad de diferenciarse en células citotóxicas; sin embargo, recuperan su potencial citotóxico cuando los macrófagos son reincorporados. Lo anterior se debería a un cambio en el equilibrio inmunitario, específicamente, a una disminución en la respuesta de tipo Th1, con un consecuente aumento de la Th2, secundario a la reducción de la

expresión de citoquinas derivadas de macrófagos, como la IL-12 [16,22]. Ésta puede activar a los LTCD4 y, posteriormente, la IL-2 y el IFN- γ secretados por estos últimos ayuda a maximizar la activación de los LTCD8 [16]. La expresión de IL-1 β , TNF α e IFN- γ es significativamente menor en ratones NOD carentes de macrófagos en comparación con los controles y estas citoquinas, liberadas por macrófagos activados, son tóxicas para las células β , ya que inducen la producción de radicales libres derivados del oxígeno (las células β son muy sensibles a los radicales libres, porque poseen una muy baja capacidad *scavenger*) [13,16].

Además, se observa que en ausencia de macrófagos existe un déficit en la activación de los LT, evidenciado por una disminución significativa en la expresión de Fas-ligando y perforina [16,22].

Rol de los LT en la patogenia de la DM-1

A modo de definición podemos decir que la DM-1 es una enfermedad inmuno-mediada, **dependiente de células T**, en la cual las células β pancreáticas son destruidas [10]. La primera prueba de esta idea se obtuvo a partir de muestras histológicas pancreáticas de individuos recién diagnosticados con DM-1; se demostró que los LT están presentes únicamente en la lesión inflamatoria (insulinitis), comprometiendo sólo a las células β , lo que implica que la infiltración es un proceso inducido sólo por éstas. Lo anterior se ve reforzado con el uso de fármacos inmunosupresores, en particular con aquéllos dirigidos específicamente contra los LT, ya que han demostrado retrasar la progresión de la enfermedad [10].

Se ha evidenciado también la existencia de destrucción selectiva recurrente de las células β en un segmento trasplantado de páncreas entre gemelos monocigotos (desde el gemelo no diabético al diabético), proporcionado una fuerte evidencia de la existencia de **memoria inmunológica de células T islote-específica**. Estudios recientes demostraron la posibilidad de “transferencia adoptiva” de DM-1 a pacientes no diabéticos inmunocomprometidos tras un trasplante de médula ósea, en el cual no se eliminaron completamente los LT del donante diabético (**Tabla 2**).

Rol de los LT en la destrucción de los islotes pancreáticos

Las células Th1 que infiltran los islotes pancreáticos secretan importantes cantidades de IFN- γ y TNF- β . Estas citoquinas activan a las células endoteliales, que reclutan un mayor número de linfocitos circulantes al sitio inflamatorio [3]. Las células portadoras de antígenos son eliminadas por **macrófagos activados** mediante un proceso de apoptosis mediado por **radicales libres derivados del oxígeno**. Paralelamente, los LTh1 estimulan a linfocitos citotóxicos antígeno-específicos, mientras que la persistente secreción de IFN- γ en los islotes inflamados determina una mayor **expresión de moléculas HLA-I** en las células β , poten-

ciando aún más su destrucción. Altas concentraciones locales de IL-1, IFN- γ , TNF- α y β tienen un efecto patogénico directo sobre las células β .

Estudios en ratones NOD pusieron de manifiesto que los **LTC8D8** son probablemente el principal factor participante en la destrucción de células β , siendo considerados los **efectores finales** en este proceso, actuando en colaboración con los LTC4D4 y con los macrófagos. Como en toda reacción autoinmune, diversos mecanismos inmunológicos se combinan en el proceso destructivo, tales como la citotoxicidad celular, la dependiente de anticuerpos, la hipersensibilidad retardada y la activación del complemento, lo que tiene como consecuencia el deterioro funcional de las células β y el desarrollo manifiesto de DM-1.

Rol de los LTh2 en la patogenia de la DM-1

Dado que los **LTh2** antagonizan las funciones de los LTh1, es un hecho generalmente aceptado que, frente a antígenos pancreáticos, la respuesta de tipo Th2 tendría un **efecto protector** contra la enfermedad.

La aparición de DM-1 en ratones NOD ocurre de forma género-dependiente; aunque el 70-90% de las hembras desarrollan la enfermedad en un plazo de 6 meses, sólo el 10-20% de los machos se convertirá en diabéticos. Es así como se ha evidenciado que los linfocitos infiltrantes presentan un fenotipo Th1 en las ratonas y, principalmente, Th2 en los ratones [12]. Por su parte, la secreción de IL-4 e IL-10, por células NKT CD4-CD8 $\alpha\beta$ +, también juega un papel en la protección contra la DM-1 [12].

Sobre la base de las observaciones anteriores, se ha logrado establecer que la **protección contra la DM-1** en ratones NOD es posible mediante: (i) la expresión selectiva de IL-4 y TGF- β 1 en las células β , (ii) administración exógena de IL-4 y (iii) expresión de TGF- β 1 en las células pancreáticas α bajo el control del promotor de glucagón. Dentro de los mecanismos responsables de la abolición de la enfermedad en estos ratones, se evidenció una polarización de los LT autorreactivos a LT protectores (de perfil Th2).

La función protectora de la respuesta Th2 se estudió también en humanos, mediante el análisis de los LT de sangre periférica y/o pancreáticos, tanto de pacientes diabéticos como de gemelos discordantes para esta patología. Los estudios indican que los **diabéticos** presentan una **baja secreción de citoquinas Th2**. Mientras que las células de los hermanos no diabéticos secretan tanto IL-4 como INF- γ , las células de los pacientes diabéticos sólo secretan INF- γ .

Sin embargo, la generalidad de esta conclusión debe ser revisada a la luz de los nuevos informes que documentan el fracaso del uso de LTh2 como modificadores de la progresión de la DM-1, demostrándose que pueden incluso precipitarla [23]. Pruebas que implican a las células Th1 y Th2 y, en particular, a sus respectivas citoquinas, en la mediación de la destrucción de las células β es un reflejo de la **doble**

función de éstas en la patogénesis de la DM-1. Por ejemplo, se demostró que la DM-1 puede ser impedida por la inducción de células Th2 o con el uso de citoquinas tipo Th2 (IL-4 e IL-10), que, a su vez, bloquean la producción de citoquinas Th1. Sin embargo, la suplementación con IL-10 agrava la enfermedad, ya que facilita la infiltración pancreática por células mononucleares, así como también acelera la necrosis de los islotes. Esto llevó a la conclusión de que la **DM-1** es una **enfermedad autoinmune mediada por Th1 y Th2** [23].

Rol de los LTh17 en la patogenia de la DM-1

Los **LTh17**, población descrita últimamente, se caracteriza por la producción de **IL-17** y el papel de estas células en la patología autoinmune ya ha sido reconocido, asignándoseles un rol en eventos que previamente se consideraban como patologías de tipo Th1 [24]; niveles elevados de IL-17 se encuentran en la esclerosis sistémica, psoriasis y artritis reumatoide, catalogadas de manera inicial como patologías tipo Th1. A su vez, dos modelos catalogados clásicamente como Th1 (artritis inducida por colágeno y la encefalomiелitis inducida experimentalmente) han sido reclasificadas como Th17.

Lo anterior es consecuencia de que la **IL-17** estructuralmente se caracteriza por ser una citoquina heterodimérica, compuesta por las sub-unidades **p40** y **p19**. La primera está presente también en la IL-12. Por su parte, los receptores de IL-23 e IL-12 comparten también una subunidad, la IL-12R β 1; ésta se combina con la subunidad IL-23R conformando el receptor de IL-23. El hecho de compartir esta subunidad pudo haber sido fuente de confusión en la asignación inicial del rol de la IL-12 y la RI tipo Th1 en determinadas patologías autoinmunes. Los primeros estudios sugerían que la regulación hacia abajo de la respuesta inflamatoria observada tras el bloqueo de la subunidad p40 con anticuerpos monoclonales demostraban la participación de la IL-12 en la patogénesis de esas enfermedades. Sin embargo, estudios posteriores demostraron que el bloqueo específico de la IL-23 determina una reducción significativa de la RI en diversas patologías, mientras que la falta de IL-12, en algunas situaciones, exacerba la inflamación [14,24].

Actualmente existe aún poca información en relación al papel de la IL-17 y de los LTh17 en la DM-1. Se ha observado que la **IL-17** posee la capacidad de inducir la expresión de la **óxido nítrico sintetasa inducible** en los islotes pancreáticos, mientras que un rol potencial de los LTh17 en la exacerbación de la DM-1 es sugerida por la observación de que la IL-23 induce diabetes en ratones si se co-administran múltiples inyecciones en dosis sub-diabetogénicas de estreptozotocina. Si los LTh17 y la citoquinas IL-23 e IL-17 juegan un papel en la aparición espontánea de la DM-1 permanece aún en estudio [24].

Rol de los LT reguladores en la patogenia de la DM-1

La respuesta inmune (RI) es regulada por diversos mecanismos encaminados a controlar la hiperactividad y a prevenir la autodestrucción. Por lo tanto, es concebible que cualquier disregulación en los LT autorreactivos posiblemente conduzca al desarrollo de DM-1. Lo anterior está contrarrestado por la RI supresora y ésta podría ser una de las explicaciones de que la sola presencia de LT autorreactivos no es sinónimo de enfermedad autoinmune.

La actividad autoinmune determina la progresión de la enfermedad en un período de tiempo relativamente largo y durante este período existen distintos *check-points* que tienen como objetivo frenar este proceso [25]. Se ha comprobado que en el páncreas de ratones no diabéticos, alrededor de la 2^{da} semana posnacimiento, se produce una ola de muertes de células β que da lugar a la presentación de antígenos pancreáticos a nivel de los ganglios linfáticos pancreáticos. En ratones NOD esto conduce a la estimulación de los LT autorreactivos. El inadecuado control del inicio de la autorreactividad, específico en las cepas NOD, se considera como un fracaso en el primer *check-point*. Poco después, a la 3^{ra}-4^{ta} semana de edad, los leucocitos entran en el páncreas de los ratones NOD como producto de la insulinitis, las células continúan acumulándose alrededor de los islotes. La transformación desde este estado benigno a la infiltración invasora y destructiva de las células β se considera como una alteración del segundo *check-point*. Así, cuando más del 90% de los islotes han sido destruidos y la producción de insulina es demasiado baja para regular la glucemia, la diabetes se precipita, lo que se produce alrededor de la 12^{da} semana de edad. A la 25^{ta}-30^{ma} semana de vida, alrededor del 80% de las ratonas NOD ya se encuentran afectadas.

Las funciones de los diferentes tipos de LTreg en el control de las enfermedades autoinmunes están bien establecidas, incluso en ratones NOD con DM-1. Existe evidencia que avala la función reguladora de los LT $\gamma\delta$, LTCD4+CD25+ y LTCD4+CD62L+ [25]. La progresión de la DM-1 en ratones NOD depende tanto de la **reducción de actividad reguladora supresora de los LTCD4+CD25+**, así como del **aumento de la patogenicidad de los LTCD4+CD25-**. Los LTCD4+CD25+ se caracterizan por una reducción progresiva de la capacidad para inhibir la proliferación de los LTCD4+CD25-, asociado a una disminución creciente de la secreción de IL-10. Paralelamente, los LTCD4+CD25 patogénicos se acumulan progresivamente en el páncreas sintetizando mayores cantidades de IFN- γ , lo que se asocia con la mayor frecuencia de expresión de CD54.

De lo anterior se desprende que la DM-1 en ratones NOD es el resultado de un proceso complejo, observándose un desequilibrio entre los linfocitos patogénicos y los supresores. El restablecimiento del equilibrio de estos dos subconjuntos celulares podría ser la clave del éxito de la inmunoterapia en esta patología [27].

Recientemente, también las células **NKT-CD1d restringidas** han sido implicadas en la regulación de la DM-1, tanto en modelos murinos como en humanos [25]. Los últimos informes han puesto en evidencia la presencia de un **número reducido de NKT** en ratones NOD, demostrándose incluso que las NKT remanentes presentan una **producción disminuida de IL-4 e INF- γ** [25]. Como esta población se encuentra numérica y funcionalmente disminuida, se supuso que la ablación genética de la expresión de CD1d no debiese tener efectos devastadores en esta cepa. A pesar de lo anterior, tres estudios realizados en ratones carentes de esta molécula evidencian que éstos presentan un aumento en la incidencia, además de un inicio acelerado de la enfermedad [25]. El gran aporte de estos estudios es la demostración de que el uso de estas células corresponde a una nueva herramienta terapéutica, con resultados hasta el momento prometedores.

Adicionalmente, los LT CD1 restringidos pueden modular la diferenciación de las DCs y éstas son capaces de inducir tolerancia en los LT, siendo razonable prever que las **NKT pueden actuar como supresoras del proceso autoinmune vía DCs**. La administración de α -galactosilceramida (α GalCer) determina la acumulación de NKT invariantes (iNKT) y DCs mieloides (MDC) en los linfonodos pancreáticos en ratones NOD, y estas MDC, al ser aisladas e inyectadas, son protectoras en hembras NOD. La supresión mediada por iNKT inducidas con α GalCer se logra a través del reclutamiento de MDC tolerogénicas en los ganglios pancreáticos. Lo anterior resultaría en el incremento de la tolerancia de los LT autorreactivos en este sitio. Las iNKT previenen el desarrollo de células efectoras auto-agresivas, sin un concomitante viraje hacia una respuesta Th2.

Las **NKT** también interfieren en la **destrucción pancreática in situ**, por ejemplo, a través de la muerte directa de las células efectoras o por supresión de sus funciones efectoras. Las células endoteliales de los vasos sanguíneos en el páncreas expresan CD1d, lo que sugiere que las NKT podrían entrar en el tejido al reconocer estas moléculas en las paredes vasculares. La proporción relativa de iNKT en comparación con los LT disminuye cuando el infiltrado se convierte de periislote a uno de tipo invasor. En contraste, los ratones NOD machos, que tienen una menor incidencia de la enfermedad, poseen una mayor cantidad de iNKT en los islotes en comparación con las hembras NOD [25].

Rol de las células dendríticas en DM-1

Un estudio australiano recientemente publicado comprobó que, en niños con DM-1 (en fase de reciente diagnóstico así como en fase estable), el **recuento absoluto de DCs** circulantes (tanto mieloides –MDC– como plasmocitoides –PDC–) se encuentra **reducido** en comparación con el grupo control. La disminución del número de DCs podría desempeñar un papel en la patogénesis de la DM-1.

Sin embargo, no se han detectado alteraciones en el fenotipo así como tampoco en la función de las DCs en estos individuos. La ausencia de diferencias en la producción de citoquinas por las DCs entre estos pacientes y los controles no permite descartar la posibilidad de que la cantidad de citoquinas secretadas a nivel pancreático pueda estar afectada.

Es posible que la disminución del número de DCs sea el resultado de un defecto primario en la generación de estas células. Consistente con lo anterior, se ha reportado un deterioro en la producción de DCs desde precursores monocitarios en pacientes con mayor riesgo de desarrollar DM-1. Sin embargo, la alteración puede deberse también a defectos a nivel de la diferenciación desde precursores CD34 a DCs, a la pobre sobrevivencia de estas últimas, o al aumento del *homing* de las DCs a los tejidos.

Independientemente de si la reducción de las DCs precede a la aparición clínica de la autoinmunidad o es una característica adquirida tempranamente en la patogénesis de la DM-1, la generación de una RI adecuada para autoantígenos pueden verse gravemente comprometida en la presencia de un número reducido de DCs [28,29].

Conclusiones

La DM-1 es una enfermedad autoinmune de etiología multifactorial, por lo que una clara comprensión de los mecanismos implicados en la etiopatogenia de la enfermedad no es fácil. Modelos animales, como ratones diabéticos no obesos (NOD) y ratas BioBreeding (BB), que espontáneamente desarrollan esta patología en forma similar a la DM autoinmune humana, han sido utilizados para estudiar los mecanismos inmunopatogénicos de esta enfermedad.

Los autoantígenos derivados de las células β , los macrófagos, DCs, LB y LT juegan un papel muy importante en el desarrollo de la enfermedad en ratones NOD. Entre los **autoantígenos** identificados, GAD y la insulina se consideran los más importantes. Sin embargo, el papel de éstos no se ha determinado completamente aún.

Los **LB** juegan un rol claramente relevante como CPA, en particular de autoantígenos pancreáticos. Los macrófagos, que se infiltran en los islotes en la etapa temprana de la insulinitis, se consideran los contribuyentes primarios a este entorno inmunológico propicio para el desarrollo y activación de los **LT citotóxicos específicos** para células β pancreáticas. Ambos LT, tanto **CD4** como **CD8**, desempeñan una función como efectores de la destrucción de las células β .

Aunque los modelos animales estudiados no desarrollan un síndrome idéntico al humano, la información obtenida a través de estos estudios posee un incalculable valor para la comprensión de los mecanismos patogénicos de la DM-1 en humanos y para el desarrollo de futuras estrategias profilácticas y terapéuticas.

Bibliografía

1. Ichinose K, Kawasaki E, Eguchi K. Recent advancement of understanding pathogenesis of type 1 Diabetes and potencial relevante to diabetic nephropathy. *Am J Nephrol* 2007;27:554-564.
2. Adorini L, Gregori S, Harrison L. Understanding autoimmune diabetes: insight from mouse models. *Trends in Molecular Medicine* 2002;8(1): 31-38.
3. Abel M, Krokowski M. Pathophysiology of Immune-Mediated (type 1) Diabetes Mellitus. *Biodrugs* 2001;15 (5):291-301.
4. Wicker L.S. Genetic control of autoimmune diabetes in the NOD mouse. *Annu. Rev. Immunol.*1995;13:179-200.
5. Kaufman D. Murder mysteries in type 1 diabetes. *Nature Medicine* 2003; 9(2):161-62.
6. Kim M, Polychronakos C. Immunogenetics of type 1 Diabetes. *Hormone Research* 2005;64:180-188.
7. Barker J. Clinical Review: Type 1 Diabetes-Associated Autoimmunity: Natural history, genetic associations, and screening. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1210-1217.
8. Onengut-Gumusc S, Concannon P. Recent advances in the immunogenetics of human type 1 diabetes. *Curr Opin Immunol* 2006;18:634-638.
9. Bottini N, Vang T, Cucca F, Mustelin T. Role of PTPN22 in type 1 diabetes and other autoimmune diseases. *Seminars in Immunology* 2006;18: 207-213.
10. Roep B. The role of T-cells in the pathogenesis if type 1 diabetes: From cause to cure. *Diabetologia* 2003;46:305-321.
11. Atkinson M, Maclaren N. The pathogenesis of Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *NEJM* 1994;331(21):1428-1436.
12. Casares S, Brumeanu T. Insights into the pathogenesis of type 1 Diabetes: A hint for novel immunospecific therapies. *Curr Molecular Med* 2001;1: 357-378.
13. Afzali B, Lombardi G, Lechler R, Lord G, Furuzawa-Carballeda J, Vargas-Rojas M, Cabral A, Weaver C, Harrington L, Mangan P, Gavioli M, Murphy K, Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom T, Oukka M, Weiner H, Kuchroo V.: The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clin Exp Immunol* 2007;148:32-46.
14. Harrington L, Mangan P, Weaver C.: Expanding the effector CD4 T-cell repertoire: the Th17 lineage. *Curr Opin Immunol* 2006; 18: 349-356.
15. Wong S, Wen L. B cells in autoimmune diabetes. *Rev Diabetic Stud* 2005; 2:121-135.
16. Yoon J, Jun H. Cellular and molecular pathogenic mechanisms of insulin-dependent Diabetes Mellitus. *Ann NY Acad Sciences* 2001;928:200-211.
17. Riley W, Maclaren N, Krischer J, Spillar R, Silverstein J, Schatz D, Schwartz S, Malone J, Shah S, Vadheim C, Rotter J. A prospective study of the development of diabetes in relatives of patients with insulin-dependent diabetes. *NEJM* 1990;323:1167-1172.
18. Gardner S, Gale E, Williams A, Gillespie K, Lawrence K, Bottazzo G, Bingley P. Progression to diabetes in relatives with islet autoantibodies: is it inevitable? *Diabetes Care* 1999;22:2049-2054.
19. Gilliam LK, Palmer J, Lernmark Å. Autoantibodies and the disease process of type 1 diabetes mellitus. In *Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text*. 3rd ed. LeRoith D, Taylor SI, Olesfsky JM, Eds. Philadelphia, Lippincott, 2004, p. 499-518.
20. Lo J, Clare-Salzman M. Dendritic cell subsets and type 1 diabetes: Focus upon DC-based therapy. *Autoimmunity Rev* 2006;5:419-423.
21. Pihoker C, William L, Hampe C, Lernmark A. Autoantibodies in Diabetes. *Diabetes* 2005;54(S2):S52-S61.
22. Stockinger B, Veldhoen M. Differentiation and function of Th17 T cells. *Curr Opin Immunol* 2007;19:281-286.
23. Almawi W, Tamim H, Azar S. T Helper type 1 and 2 cytokines mediate the onset and progression of type I (Insulin-Dependent) Diabetes. *J Clin Endocr & Metab* 1999;84:1497-1502.
24. Cooke A. Th17 cells in inflammatory conditions. *Rev Diabetic Stud* 2006; 3:72-75.

25. Cardell S. The natural killer T lymphocyte: a player in the complex regulation of autoimmune diabetes in non-obese diabetic mice. *Clin Exp Immunol* 2005;143:194-202.
26. Tang Q, Bluestone J. Regulatory T-cell physiology and application to treat autoimmunity. *Immunological Rev* 2006;212:217-237.
27. Saxena V, Ondr J, Magnusen A, Munn D, Katz J. The Countervailing Actions of Myeloid and Plasmacytoid Dendritic Cells Control Autoimmune Diabetes in the Nonobese Diabetic Mouse1. *J Immunol* 2007;179: 5041-5053.
28. Vuckovic S, Withers G, Harris M, Khalil D, Gardiner D, et al. Decreased blood dendritic cell counts in type 1 diabetic children. *Clinical Immunology* 2007;123: 281-288.
29. Jacques-Eric Gottenberg a,b, Gilles Chiochia. Dendritic cells and interferon-mediated autoimmunity. *Biochimie* 2007;89:856-871.
30. Creusot R, Fathman C. Gene therapy for type 1 diabetes: a novel approach for targeted treatment of autoimmunity. *J Clin Invest* 2004;114:892-894.
31. Wucherpfennig K, Eisenbarth G. Type 1 diabetes. *Nature Immunology* 2001;2(9):767-768.
32. Bach J, Cahtenoud L. Tolerance to islet autoantigens I type 1 diabetes. *Ann Rev immunol* 2001;19:131-161.
33. Hormann D, von Herrath M. Regulatory T cells and type 1 diabetes. *Clin Immunol* 2004;112:202-209.
34. Bresson D, von Herrath M. Moving towards efficient in type 1 diabetes: To combine or not to combine? *Autoimmunity Rev* 2007;6:315-322.
35. Fairweather D, Rose N. Type 1 diabetes: virus infection or autoimmune disease?. *Nature Immunology* 2002;3(4):338-340.
36. Cooke A, Phillips J, Parish N. Tolerogenic strategies to halt or prevent type 1 diabetes. *Nature Immunology* 2001;2(9):810-815.
37. von Boehmer H. Type 1 diabetes: focus on prevention. *Nature Medicine* 2004;10(8):783-784.
38. von Herrath M, Bach J. Juvenile autoimmune diabetes: A pathogenic role for maternal antibodies? *Nature Medicine* 2002;8(4):331-333.