
Hur nära är lösningen på diabetesgåtan?

MIKAEL KNIP OCH HANS ÅKERBLOM

Barn- och ungdomsdiabetes eller typ 1-diabetes har blivit fem gånger vanligare i vårt land under de senaste 50 åren. Orsakerna till den snabba ökningen är än så länge oklara. Typ 1-diabetes uppfattas som en immunmedierad sjukdom som utvecklas som resultatet av en olycklig samverkan mellan predisponerande ärftliga faktorer och yttre faktorer. HLA-generna på den korta armen av kromosom 6 bidrar till ungefär hälften av den genetiska sjukdomskomponenten, medan den andra hälften förmedlas av flera gener utanför HLA-området. En odefinierad yttre faktor antas utlösa sjukdomsprocessen hos ärftligt benägna individer. Sannolikt driver en annan yttre faktor på sjukdomsprocessen fram till den kliniska debuten. Diabetesassocierade autoantikroppar kan påvisas i den perifera cirkulationen som det första tecknet på en destruktionsprocess i de insulinproducerande cellerna i pankreasöarna. Det symtomfria prekliniska intervallet från uppkomsten av de första autoantikropparna fram till den kliniska sjukdomsdebuten varierar individuellt men är i genomsnitt ungefär tre år. Sjukdomsprocessens förlopp påverkas sannolikt av en rad yttre och individuella faktorer och deras samverkan med genetiska element. Vår hypotes är att sjukdomsprocessen utlöses av en diabetogen enterovirusinfektion, medan dietärt bovin insulin fungerar som den pådrivande yttre faktorn. Dessutom finns det en rad modifierande faktorer som accelererar eller bromsar destruktionsprocessen.

Inledning

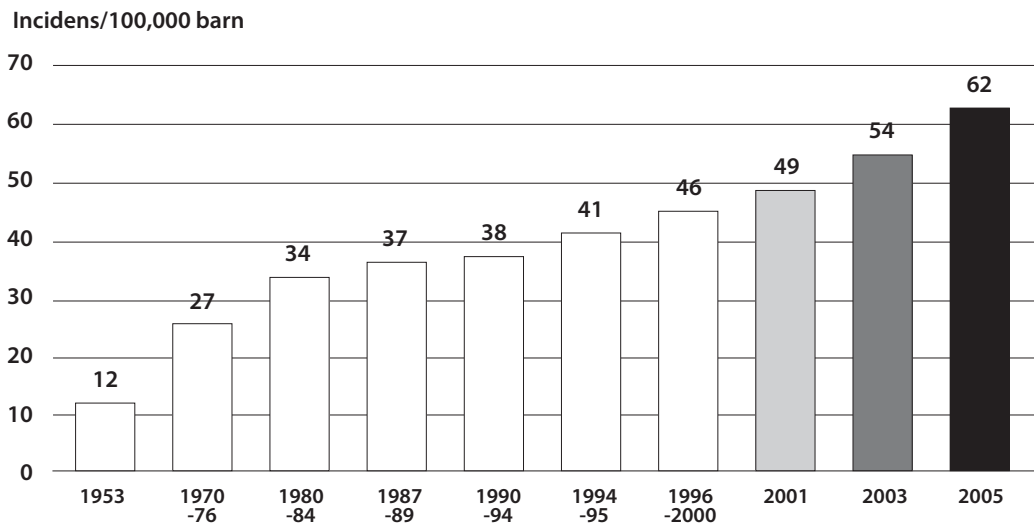
De första pålitliga uppgifterna om diabetesincidensen hos barn och ungdomar i Finland härstammar från 1953, då Somersalo (1) rapporterade att incidensen var ungefär 12 nya fall/100 000 barn under 15 år. Efter det har incidensen ökat i relativt jämn takt (Figur 1), och senaste år nåddes en incidens på 62/100 000 (Reunanen, A., muntligt meddelande). Det innebär att incidensen har drygt femdubblats under en tidsperiod på 53 år, och vårt land fortsätter att ha den högsta incidensen i världen. En liknande utveckling med en ökande diabetesincidens hos barn har skett i de flesta industrialiserade länderna efter andra världskriget (2). Bakgrunden till den ökande incidensen har förblivit okänd trots att flera olika hypoteser har lanserats (3–6). En förklaring baserar sig på hygienhypotesen (7), som ursprungligen utvecklades för att förklara varför frekvensen av astma och andra atopiska sjukdomar har ökat märkbart i de utvecklade länderna under de senaste 50–60 åren. Enligt den här tankegången har det

minskade infektionstrycket i barndomen på grund av den förbättrade hygien lett till en omprogrammering av immunsystemet, som gynnar atopiska reaktioner hos vissa individer och autoimmuna reaktioner hos andra. En annan förklaring utgår från att den snabba längdtillväxten och viktuppgången hos barn i de utvecklade länderna stressar de insulinproducerande betacellerna, som då lättare skadas av diabetogena yttre faktorer, vilket ökar risken att utveckla diabetes (3). Enligt

FÖRFATTARNA

Mikael Knip är professor i pediatrik vid Helsingfors universitet och överläkare vid HUCS, Barn- och ungdomssjukhuset.

Hans Åkerblom är professor emeritus i pediatrik vid Helsingfors universitet.



Figur 1. Incidensen för typ 1-diabetes hos barn under 15 år i Finland från 1953 till 2005.

en tredje hypotes kan vilka faktorer som helst som leder till betacellsstress öka individens benägenhet att insjukna i diabetes (6).

Den genetiska diabetesbenägenheten

HLA-generna, som är lokaliserade på den korta armen av kromosom 6, spelar en avgörande roll i den genetiska predispositionen till typ 1-diabetes och de har uppskattats bidra till ungefär 50 procent av den familjära anhopningen av sjukdomen (8). Nästan 90 procent av alla patienter bär på endera eller båda av de två haplotyper som är de starkaste HLA-markörerna för typ 1-diabetes, dvs. HLA DR4-DQ8 och/eller DR3-DQ2. Å andra sidan har upp till 30–40 procent av bakgrundspopulationen den ena eller båda av de predisponerande haplotyperna. Endast en liten andel (mindre än 5 %) av de individer som bär på ökad HLA-medierad sjukdomsbenägenhet, insjuknar i klinisk diabetes. Individer som har ärvt den protektiva haplotypen HLA DR2-DQ6 från båda sina föräldrar är totalt skyddade mot typ 1-diabetes. De utgör enbart 2–3 procent av totalbefolkningen. HLA-molekylerna, som kodas av HLA-generna, spelar en central roll i uppkomsten av en immunrespons, eftersom de presenterar den processerade antigenen för T-lymfocyters receptor. Presentationen är en förutsättning för utlösning av en immunrespons mot den

aktuella antigenen. Mekanismerna för hur HLA-genernas diabetesbenägenhet förmedlas är inte helt klarlagda. Enligt den enklaste modellen presenterar de predisponerande molekylerna den eller de centrala antigenerna effektivare för T-cellerna än de molekyler som kodas av neutrala eller protektiva gener. En annan möjlighet är att HLA-molekylerna opererar redan i fosterstadiet i thymus vid etableringen av central tolerans. Tanken är då den, att de protektiva molekylerna presenterar diabetogena autoantigener effektivt för de mognande autoreaktiva T-lymfocyterna, som sedan elimineras i thymus och aldrig når perifera vävnader.

Insulingenpolymorfism på den korta armen av kromosom 11 är förknippad med en ökad benägenhet för typ 1-diabetes (9). Den här polymorfismen bidrar till högst 10 procent av den familjära sjukdomsanhopningen. Det har visat sig att den protektiva varianten leder till en ökad expression av insulin i thymus och central eliminering av autoreaktiva T-lymfocyter under fosterutvecklingen (10). Däremot resulterar den predisponerande varianten i en ökad insulinexpression i betacellerna och en kraftigare human immunrespons på insulin i det prekliniska skedet (11). Polymorfism i den gen som kodar den cytotoxiska T-lymfocyt-associerade antigenen 4 (CTLA-4) och som är belägen på den långa armen av kromosom 2, har visat sig ge en ökad benägenhet för olika autoimmuna sjukdomar, bl.a. typ 1-diabetes

(12). CTLA-4 nedreglerar antigenspecifika T-cellsresponser, och den sjukdomsassocierade varianten har rapporterats vara förknippad med lägre expression av CTLA-4. Den diabetespredisponerande effekten av CTLA-4-varianten är relativt svag, och den bidrar till mindre än 10 procent av den familjära anhopningen av typ 1-diabetes. Bottini et al. rapporterade för ett par år sedan, att polymorfism i PTPN22-genen på den korta armen av kromosom 1 är associerad med en ökad risk för typ 1-diabetes (13). Den här genen kodar lymfocyternas proteintyrosinfosfatas (LYP), som dämpar den spontana aktiveringen av T-lymfocyterna. Den sjukdomsassocierade PTPN22-varianten förefaller att leda till en aktivering av LYP-molekylen, vilket innebär en kraftigare inhibering av T-cellernas aktivering. Den här polymorfismens bidrag till den familjära sjukdomsanhopningen kan uppskattas att vara i storleksordningen 5–10 procent.

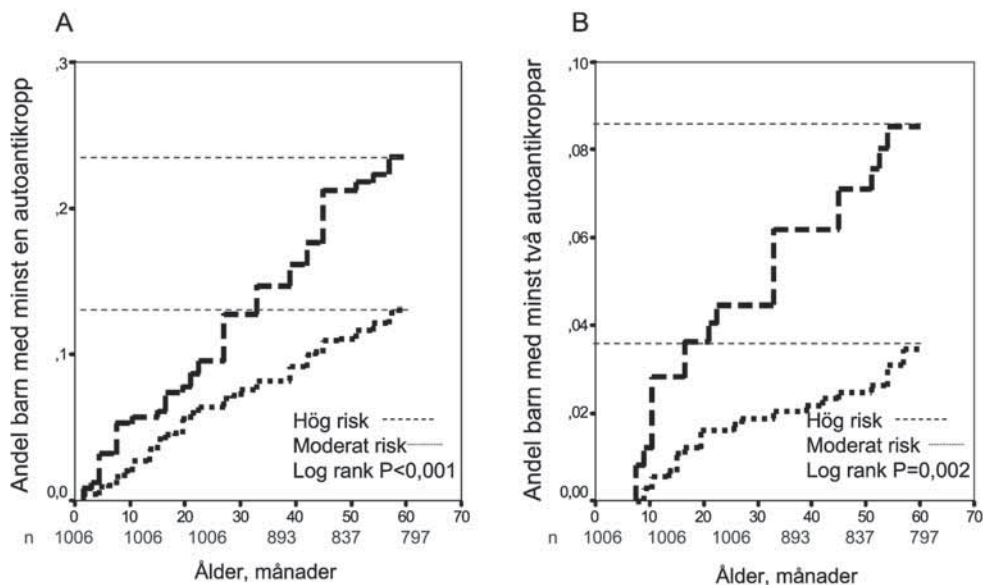
Två nya genregioner har nyligen rapporterats vara förknippade med en ökad risk för typ 1-diabetes. Vella et al. fann en signifikant association mellan typ 1-diabetes och ett område på den korta armen av kromosom 10, som innehåller genen för CD25, en subenhet av interleukin-2-receptorkomplexet med hög affinitet (14). Den sjukdomsassocierade varianten har hittills inte identifierats. Genpolymorfism i IFIH1-genen på den långa armen av kromosom 2, som kodar för en enterovirusreceptor, har visat sig vara förknippad med en nedsatt benägenhet för typ 1-diabetes (15). Effekten av de här två genregionerna på den ärftliga diabetesbenägenheten är lägre än för t.ex. insulingen- och PTPN22-polymorfismerna. Ytterligare gener som predisponerar för insjuknande i typ 1-diabetes kommer troligen att kunna identifieras under de närmaste åren. Deras bidrag till den familjära sjukdomsanhopningen och därmed den genetiska diabetesbenägenheten, kommer sannolikt att vara rätt marginell, men de kan ge nya insikter om sjukdomens patogenetiska mekanismer.

Det naturliga sjukdomsförloppet

Den kliniska sjukdomsdebuten föregås av en tidsperiod av varierande längd, under vilken sjukdomsprocessen framskrider utan att ge upphov till några symtom. Aggressiv betacellsdestruktion kan leda till klinisk sjukdomsdebut inom några månader. Den längsta prekliniska tidsperioden sträckte sig

å andra sidan över mer än 16 år hos en pojke, som uppvisade de första diabetesassocierade autoantikropparna vid tre års ålder och insjuknade i diabetes i en ålder av 19 år. Det finns fyra olika autoantikroppsreaktiviteter som har visat sig vara av prediktivt värde för typ 1-diabetes (16). De inkluderar öcellsantikroppar (islet cell antibodies, ICA), insulinautoantikroppar (IAA), antikroppar mot 65 kD-isoformen av glutamatdekarboxylas (GAD) och antikroppar mot den proteintyrosinfosfatasrelaterade öcellsantigenen 2 (islet antigen 2, IA-2). ICA täcker åtminstone delvis GAD och IA-2 antikropparna men inkluderar dessutom antikroppar mot en eller flera oidentifierade antigener. Ett flertal studier har visat att de första autoantikropparna kan utvecklas mycket tidigt, dvs. redan under det första levnadsåret (17, 18). Den finländska Diabetes Prediction and Prevention-studien (DIPP) har följt med mer än 8 000 barn med ökad HLA-definierad diabetesbenägenhet från födseln bl.a. i förhållande till utvecklingen av diabetesassocierade autoantikroppar. Figur 2 visar hur bärare av olika HLA-riskgenotyper serokonverterar till positivitet för minst en autoantikropps specificitet (panel A) eller multipla, dvs. minst två, autoantikroppar (panel B) under de fem första levnadsåren. Av bilden framgår att ungefär 24 procent av de barn med den HLA-genotyp som ger den högsta risken för att insjukna i typ 1-diabetes blir autoantikroppspositiva och nästan 9 procent positiva för multipla antikroppar före 5 års ålder (19). Motsvarande andelar bland barnen med HLA-genotyper associerade med moderat risk att utveckla diabetes var ungefär 12 procent för positivitet för minst en autoantikropp och knappt 4 procent för multipel positivitet. Eftersom diabetesrisken för barn av HLA-högriskgenotyp är ungefär 7 procent och för barn med genotyper medförande moderat risk 2–3 procent, visar de ovan nämnda antikroppsfrekvenserna, att inte alla autoantikroppspositiva insjuknar i diabetes.

I det prekliniska skedet sprider sig den humoral immunresponser från en epitop till en annan inom samma antigen och från en antigen till flera. Rön från DIPP-studien tyder på att den här spridningen sker relativt snabbt, och om den inte har ägt rum inom ett år efter det att de första autoantikropparna har utvecklats, är en spridning osannolik (20, 21). Den här observationen i kombination med en rad övriga fynd talar för att positivitet för en enda autoantikroppsreaktivitet representerar en ofarlig, icke-progressiv betacellsautoimmu-



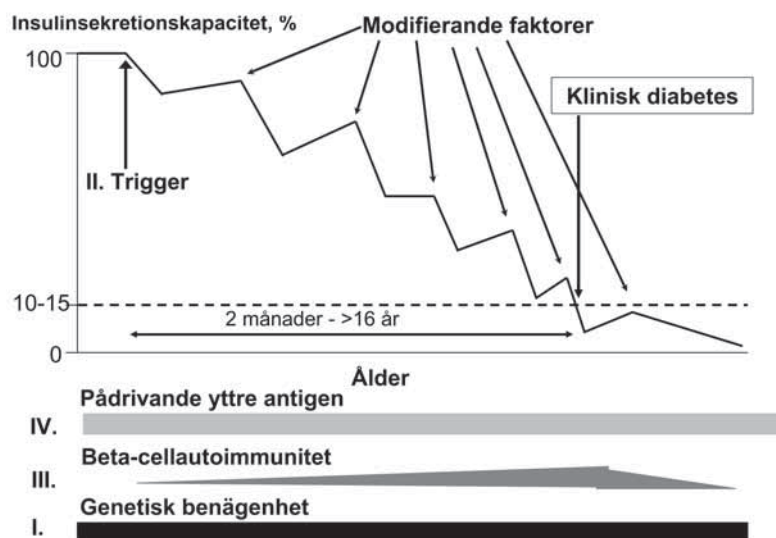
Figur 2. Den kumulativa incidensen av minst en diabetesassocierad autoantikropp (panel A) och multipla (≥ 2) autoantikroppar (panel B) hos barn med HLA-genotypen DQB1*02/*0302, som medför hög risk för typ 1-diabetes, och HLA-genotypen DQB1*0302/x (x \neq *02, *0301 och *0602), som förmedlar moderat risk för typ 1-diabetes. Bilden är modifierad på basis av referens 19.

nitet, medan positivitet för två eller flera autoantikroppar avspeglar en progressiv process som väldigt sällan avstannar helt (22). Det innebär att multipel autoantikroppspositivitet kan utnyttjas som surrogatmarkör för klinisk diabetes i prospektiva studier, eftersom den övervägande majoriteten av barn med minst två autoantikroppar förr eller senare kommer att utveckla klinisk diabetes (23). Användningen av meningsfulla surrogatmarkörer kommer att förkorta längden av prospektiva studier som monitorerar det naturliga sjukdomsförloppet samt av kliniska studier som primärt försöker förebygga uppkomsten av klinisk diabetes hos genetiskt benägna personer utan tecken på en pågående sjukdomsprocess.

Vad talar för att yttre faktorer spelar en avgörande roll vid uppkomsten av typ 1-diabetes?

Det föreligger en rad forskningsrön, som pekar på att yttre faktorer på ett kritiskt sätt bidrar till utvecklingen av typ 1-diabetes. Studier med tväggstävlingar uppvisar en parvis sjukdomskonkordans på endast 13–33 procent (24, 25). Det är en iögonenfallande

stor variation i sjukdomsincidensen även om man betraktar enbart Europa med den lägsta incidensen på 3,2/100 000 barn under 15 år i Makedonien (26) och den högsta i Finland på 62/100 000 barn. Den här nästan tjugofaldiga differensen kan knappast förklaras med genetiska skillnader. Incidensen för typ 1-diabetes har ökat avsevärt i de flesta industrialiserade länder under de senaste 50 åren. Till exempel den i inledningen nämnda femdubblingen av sjukdomsincidensen sedan början av 1950-talet i Finland kan endast till en mycket liten del bero på ärftliga faktorer, eftersom genpoolen förändras långsamt över många generationer. Vi har gjort en jämförelse mellan patienter som diagnostiserades med diabetes i barndomen under tidsperioden 1939–1965, och patienter som insjuknade i diabetes 1990–2000. Det framgick då att det med tiden har skett en minskning i andelen nydiagnostiserade patienter med HLA-högriskgenotyp och en ökning av patienter med protektiva HLA-genotyper (27). Det tyder på att det diabetogena trycket från omgivningen har ökat, eftersom sjukdomen numera kan bryta ut även hos individer med ingen eller enbart lindrig genetisk benägenhet. Migrationsstudier har visat att incidensen förändras efter flyttningen och närmar sig incidensen



Figur 3.

En patogenetisk modell för typ 1-diabetes. Den genetiska benägenheten tillåter att sjukdomen utvecklas, men progression till klinisk diabetes förutsätter därtill en yttre faktor eller "trigger", som utlöser sjukdomsprocessen, och en annan exogen antigen, som driver på destruktionsprocessen av de insulinproducerande betacellerna i pankreasöarna. Dessutom finns det en rad yttre faktorer, som modifierar sjukdomsprocessens förlopp och längd. När processen initieras, uppenbarar sig autoantikroppar mot betacellantigener i den perifera cirkulationen. Autoantikropparna spelar ingen patogenetisk roll, men de avspeglar destruktionsprocessen. Kliniska symtom på diabetes framkommer först i den fas när 80–90 procent av betacellerna har skadats, efter det att sjukdomsprocessen progredierat i genomsnitt i ungefär 3 år utan att ge några symtom.

för majoritetsbefolkningen i det nya geografiska området redan efter en generation (28). Det faktum att mindre än 5 procent av alla individer som bär på HLA-definierad ärftlig sjukdomsbenägenhet, insjuknar i typ 1-diabetes, understryker betydelsen av icke-genetiska faktorer vid uppkomsten av typ 1-diabetes. Sammantaget indikerar de ovan nämnda forskningsrönen att yttre faktorer spelar en central roll vid utvecklingen av typ 1-diabetes.

En patogenetisk modell för typ 1-diabetes

Ackumulerade forskningsresultat tyder på att en yttre utlösare kan initiera sjukdomsprocessen vid typ 1-diabetes vid vilken ålder som helst, även om en majoritet av processerna förefaller att initieras tidigt i barndomen (29). En patogenetisk modell presenteras i figur 3. Enligt den tillåter den genetiska benägenheten att den diabetogena processen initieras, men den leder inte till klinisk sjukdomsdebut hos alla personer med en påbörjad process. Enligt vår hypotes behövs det förutom utlösaren

även en annan yttre faktor som driver på sjukdomsprocessen på samma sätt som gluten i celiaki. I själva verket finns det förbluffande likheter mellan typ 1-diabetes och celiaki ur en patogenetisk synvinkel (30, Tabell I). Båda sjukdomarna karakteriseras av genetisk benägenhet, som förmedlas av både HLA-gener och gener utanför HLA-området. HLA-generna kan förklara ungefär hälften av den ärftliga benägenheten i båda sjukdomarna. Ungefär 20 procent av vita människor bär på HLA-medierad predisposition för celiaki, och mer än 95 procent använder dagligen spannmålsprodukter som innehåller gluten. Trots det kan celiaki diagnostiseras hos högst 1,3 procent av befolkningen (31). Det talar obestridligen för att utvecklingen av celiaki förutom HLA-definierad benägenhet och daglig glutenanvändning kräver ytterligare faktorer. Det är osannolikt att generna utanför HLA regionen skulle kunna vara den enda saknade länken. I själva verket föreligger det forskningsrön som tyder på att virusinfektioner i tarmkanalen kan spela en roll vid uppkomsten av celiaki (32, 33).

Särdrag	Celiaki	Typ 1-diabetes
<i>Genetik</i>	HLA DQ2 (> 85 %) (HLA DQ8) Icke-HLA gener, svarar för ~ 50 %	HLA DQ8 HLA DQ2 Icke-HLA gener, svarar för ~ 50 %
<i>Utlösare av målcells-skada</i>	Infektion?	Infektion?
<i>Pådrivande antigen</i>	Dietärt gluten	Dietär?
<i>Autoantikroppar</i>	Retikulinantikroppar, endomycium antikroppar, vävnadstransglutaminasantikroppar	Insulin autoantikroppar, GAD och IA-2 antikroppar
<i>Utfall</i>	En av 15–20 med HLA-medierad ärftlig benägenhet insjuknar i celiaki	En av 15–20 med HLA-medierad ärftlig benägenhet insjuknar i typ 1-diabetes

Tabell I.
Jämförelse av särdrag för celiaki och typ 1-diabetes.

I likhet med omständigheterna vid celiaki bär ungefär var femte vit individ HLA-medierad benägenhet för typ 1-diabetes, medan den kumulativa livslånga incidensen av sjukdomen kan uppskattas vara nära 1 procent. Det innebär att ungefär endast 5 procent av personer med HLA-definierad sjukdomsbenägenhet insjuknar i klinisk typ 1-diabetes. Vår tankegång är att utvecklingen av typ 1-diabetes förutsätter en kombination av genetisk benägenhet, en diabetogen utlösare vid rätt tillfälle och hög exposition för en pådrivande yttre faktor. Om någon av de tre delfaktorerna saknas, är risken för typ 1-diabetes minimal även om de andra predisponerande elementen finns till hands. En sådan modell kan förklara varför bara en liten minoritet av de personer som bär på ärftlig sjukdomsbenägenhet verkligen insjuknar i diabetes. Förutom utlösaren och den pådrivande faktorn finns det sannolikt en rad andra yttre faktorer som kan modifiera sjukdomsprocessen antingen med accelererande eller skyddande inverkan.

Potentiella utlösande faktorer av betacellsautoimmunitet och typ 1-diabetes

Som vi redan har nämnt, kan de första tecknen på betacellsautoimmunitet utvecklas redan under de första levnadsåren. I DIPP-studien

har det framkommit att det föreligger en klar årstidsvariation i serokonversionsfrekvensen för autoantikroppspositivitet. De första autoantikropparna utvecklas oftare under hösten och vintern och mer sällan under våren och sommaren (28). Eftersom den initiala serokonversionen representerar det första tecknet på att sjukdomsprocessen har initierats, talar observationen för att den eller de faktorer som utlöser den primära betacellsskadan, bör uppvisa en årstidsvariation. Dessutom bör faktorn karakteriseras av en viss variation i tid och intensitet från år till år, eftersom serokonversionstopparna i viss mån varierar tidsmässigt och i fråga om intensitet från ett år till ett annat. Vi har också kunnat påvisa att den första serokonversionen hos syskon i samma familj ofta sker under samma årstid men mer sällan samma år (34).

På basis av tidigare forskningsresultat och de egenskaper som karakteriserar den utlösande faktorn för sjukdomsprocessen, kan vi överväga virusinfektioner, brist på vitamin D och faktorer som orsakar betacellsstress, som möjliga utlösande faktorer. Åtminstone ett par omständigheter talar emot att brist på vitamin D skulle vara den utlösande faktorn. Först och främst får nästan alla småbarn i Finland och i övriga nordeuropeiska länder regelbunden substitution med vitamin D, och därför är brist på vitamin D mycket ovanlig i den här ålders-

gruppen. För det andra har vi i en färsk studie visat att barn i ryska Karelen har något lägre serumkoncentrationer av vitamin D än barn i Finland (35), medan diabetesincidensen är sex gånger så hög i vårt land. Det har tidigare rapporterats att den metaboliska balansen uppvisar en årstidsvariation hos barn med etablerad typ 1-diabetes med sämre glukosbalans under hösten och vintern än under våren och sommaren (36, 37). Detta kan avspegla en bättre insulinsensitivitet under våren och sommaren som ett resultat av större fysisk aktivitet. En förbättrad insulinsensitivitet minskar belastningen på de insulinproducerande betacellerna hos friska barn. Det förefaller emellertid osannolikt att det skulle föreligga en kännbar årstidsvariation i den fysiska aktivitetsnivån hos mycket unga barn, dvs. den grupp, hos vilka årstidsvariationen i utvecklingen av de första diabetesassocierade autoantikropparna har påvisats.

Virusinfektioner återstår således som den starkaste kandidaten för den utlösande faktorn. Detta gäller i all synnerhet enterovirusinfektioner, som uppvisar en årstidsvariation som föregår serokonversionstopparna för de diabetesassocierade autoantikropparna med 1–3 månader. Vi har tidigare konstaterat att det finns ett starkt tidsmässigt samband mellan enterovirusinfektioner och utvecklingen av diabetesassocierade autoantikroppar i två prospektiva studier av barn med ökad diabetesbenägenhet (38–42). Som vi tidigare har nämnt, har polymorfism förknippad med genetisk benägenhet för typ 1-diabetes nyligen påvisats i IFIH1-genen, som kodar för en enterovirusreceptor (15). Det här fyndet erbjuder teoretiskt en intressant möjlighet för en interaktion mellan predisponerande genpolymorfism och en yttre faktor. Studier har inletts för att utröna betydelsen av dylik interaktion.

Potentiella pådrivande faktorer för sjukdomsprocessen vid typ 1-diabetes

För närvarande finns det inga direkta bevis för en pådrivande exogen antigen i den sjukdomsprocess, som leder till klinisk diabetes. Tanken är baserad på indirekta fynd och på parallellen med celiaki, den bör således granskas kritiskt. Generellt sett kan man argumentera att en dylik exogen antigen bör representera en rätt vanlig exposition i de utvecklade länderna och uppvisa en viss variation mellan olika länder och befolkningar.

Dessutom kan man spekulera om att antigenkandidaten bör inkludera ursprungliga eller processerade strukturella motiv som binds till HLA-molekylerna kodade av de predisponerande generna och som därmed presenteras effektivt för T-lymfocyterna. Celiaki erbjuder å sin sida en intressant infallsvinkel i det här sammanhanget. Orsakssambandet mellan användningen av vete och celiaki avslöjades via en oplanerad intervention. Den vetefria dieten under senare delen av andra världskriget i Nederländerna och den efterkrigstida återgången till användning av vete ledde till att gluten avslöjades som den dietära pådrivande faktorn i celiaki (43). Utan dessa historiska händelser kunde sambandet mellan celiaki och gluten ha förblivit fördolt. Det har nyligen rapporterats att HLA-associationen vid celiaki med HLA DR3-DQ3 som den dominerande predisponerande haplotypen kan förklaras av att DQ2-molekylen har en överlägsen kapacitet att binda prolinrika glutenpeptider som inte har digesterats i mag-tarmkanalen och som har deamiderats av vävnadstransglutaminas (44). Det här fyndet ger upphov till två tankeväckande reflektioner. Den första är att den viktigaste autoantigenen i celiaki, dvs. vävnadstransglutaminas, förefaller att ha en biologisk funktion i den sjukdomsprocess som leder till celiaki. Den andra reflektionen är att den exogena antigenen, gluten, måste genomgå en kritisk posttranslationell modifikation, dvs. deamidering, innan den kan bindas av den relevanta HLA molekylen och presenteras för T-lymfocyterna.

Insulin är en central autoantigen vid typ 1-diabetes, eftersom det är den enda betacellspecifika antigenen. IAA är de första eller bland de första autoantikropparna som utvecklas när sjukdomsprocessen utlöses hos småbarn (17, 18). Småbarn som insjuknar i typ 1-diabetes, har oftare IAA än nydiagnostiserade äldre barn och vuxna (45). Eftersom komjölsbaserad modersmjölksersättning i allmänhet är den första och den vanligaste källan för främmande komplexa proteiner hos spädbarn, frågade vi oss om tidig användning av modersmjölksersättning ger upphov till en immunrespons på bovint insulin, som ingår i modersmjölksersättningen. Bovint insulin skiljer sig från humant insulin i fråga om tre aminosyror: position 8 i A-kedjan, som innehåller alanin i bovint insulin och threonin i humant insulin, position 10 i A-kedjan, som består av valin i bovint insulin och isoleucin i humant insulin, samt position 30 i B-kedjan med alanin i bovint insulin och threonin i

humant insulin. Vår studie visade att de barn som ammadades exklusivt, hade klart lägre koncentrationer av IgG-antikroppar mot bovin insulin vid 3 månaders ålder än de barn, som hade fått modersmjölksersättning före den åldern (46). Alla 200 barn följdes med upp till 18 månaders ålder. Uppföljningen visade, att IgG-antikropps-nivåerna mot bovin insulin började sjunka hos de barn, som hade fått modersmjölksersättning tidigt som ett tecken på att barnen utvecklade oral tolerans mot bovin insulin. De barn, som ammadades exklusivt åtminstone till 3 månaders ålder, uppvisade stigande antikropps-koncentrationer fram till 12 månaders ålder, varefter antikropps-nivåerna började sjunka. Den här profilen var väntad, eftersom barnen började få modersmjölksersättning i något skede under det första levnadsåret. I kohorten ingick nio barn som tidigt utvecklade tecken på betacellsautoimmunitet. De här barnen hade stadigt ökande IgG-antikroppar mot bovin insulin under hela uppföljningsperioden, vilket talar för att de saknade kapacitet att etablera oral tolerans mot oralt insulin. Det här rönet talar för att den immunrespons som utvecklas primärt mot bovin insulin i spädbarnsåldern, i något skede kan divergera och riktas mot humant insulin hos ett fåtal barn, som saknar förmåga att utveckla oral tolerans mot bovin insulin.

Finns det då några forskningsresultat som talar för att en fortsatt hög exposition för bovin insulin i barndomen kunde öka risken att insjukna i typ 1-diabetes? Observationerna från tre populationsbaserade fallkontrollstudier är motstridiga. Verge et al. rapporterade från Australien att mjölkkonsumtionen var högre i det prekliniska skedet hos barn som hade insjuknat i diabetes i jämförelse med barn i en kontrollgrupp (47). I vår Barndiabetes i Finland-studie observerade vi att en hög mjölkkonsumtion i barndomen (\geq tre glas mjölk/dag) ökade risken hos ursprungligen friska syskon till nydiagnostiserade barn att utveckla diabetesassocierade autoantikroppar och att insjukna i klinisk diabetes (48, 49). Däremot tydde en retrospektiv svensk studie på att mjölkintaget var lägre i den prekliniska fasen hos barn som insjuknade i diabetes jämfört med friska barn (50).

Tidig introduktion av spannmålsprodukter som innehåller gluten, dvs. före 3–4 månaders ålder, har rapporterats vara förknippad med en ökad risk att utveckla diabetesassocierade autoantikroppar (51, 52). Två småskaliga interventionsstudier med en glutenfri diet för de

övriga medlemmarna i familjer där det finns patienter med typ 1-diabetes har utförts, och båda undersökningarna kom fram till att den glutenfria dieten inte hade någon inverkan på den humoral betacellsautoimmuniteten (53, 54). En annan omständighet som talar mot att en tidig användning av glutenrika spannmålsprodukter skulle spela en kritisk roll i den sjukdomsprocess som resulterar i typ 1-diabetes är att exposition för gluten före 4 månaders ålder är väldigt sällsynt i de nordeuropeiska länder som har den högsta incidensen av typ 1-diabetes hos barn.

Modifierande faktorer

Det föreligger en iögonfallande stor individuell variation i hur lång den prekliniska fasen är hos individer som insjuknar i typ 1-diabetes. Även om en del av skillnaderna kan orsakas av genetiska faktorer, finns det med säkerhet en rad icke-genetiska faktorer som påverkar sjukdomsförloppet i den prekliniska fasen.

Tidig introduktion av främmande komplexa proteiner i spädbarnsåldern kan möjligen påverka programmeringen av immunsystemet på ett sådant sätt att autoimmuna responser lätt utlöses senare i barndomen. Den tarmassocierade lymfatiska vävnaden representerar det största immunorganet hos människan, och ackumulerade forskningsrön talar för att den här vävnaden är involverad i den sjukdomsprocess som leder till typ 1-diabetes (55–57). Tecken på en subklinisk intestinal immunaktivering har påvisats hos patienter med typ 1-diabetes men utan celiaki i form av ökad expression av adhesionsmolekyler, HLA klass II-molekyler och cytokiner (58, 59). Många forskningsresultat har pekat på att faktorer relaterade till uppfödningen av spädbarn kan fungera som riskfaktorer för senare typ 1-diabetes (60). Komjölksproteiner är de första främmande proteinerna som ett spädbarn intar i mer än två tredjedelar av fallen i de industrialiserade länderna. En rad retrospektiva studier har talat för att amning skyddar mot typ 1-diabetes, men det finns också en del undersökningar som tyder på att amning ökar risken för typ 1-diabetes (61). Gerstein utförde 1994 en metaanalys av acceptabla studier om inverkan av uppfödningen av spädbarn på risken att barnet senare insjuknar i diabetes (62). Metaanalysen visade att en kortare amning än 3 månader var förknippad med en 1,4-faldigt ökad diabetesrisk, medan introduktion av modersmjölksersättning före 4 månaders ålder resulterade

i en 1,5-faldig risk för diabetes. Prospektiva studier har också gett motstridiga resultat för betydelsen av amning och tidig insättning av modersmjölksersättning i spädbarnsåldern för uppkomsten av typ 1-diabetes senare i barndomen. De flesta prospektiva studier har tytt på att det inte finns något samband mellan hur länge ett barn ammas och i vilken ålder det får modersmjölksersättning (60). En färsk analys av dietära data från DIPP-studien talar för att en tidig introduktion av frukt, bär och rotfrukter ökar risken för att utveckla betacellsautoimmunitet (63). Man kan dock inte utesluta att en tidig introduktion av de ovannämnda födoämnen fungerar som en indikator för andra livsstilsvanor, som kunde bidra till en ökad risk för betacellsautoimmunitet.

En pilotstudie som utförts huvudsakligen i Finland har visat att avvänjning från bröstmjolk till en kraftigt hydrolyserad modersmjölksersättning, som inte innehåller intakta proteiner utan peptider med en molekylvikt på högst 2 000 D, minskar den kumulativa incidensen av diabetesassocierade autoantikroppar fram till knappt fem års ålder med 40–60 procent (64). Detta gäller hos barn med en HLA-genotyp associerad med ökad diabetesbenägenhet och med minst en familjemedlem med typ 1-diabetes. Den här observationen är den första indikationen på att man möjligen kan manipulera spontan betacellsautoimmunitet hos barn. Utifrån erfarenheterna från pilotstudien har en internationell multicenterstudie (TRIGR, Trial to Reduce IDDM in the Genetically at Risk) inletts 2002 för att få svar på frågan om en dylik dietär modifikation i spädbarnsåldern kan reducera den kumulativa incidensen av diabetesassocierade autoantikroppar och/eller klinisk diabetes vid 6 års ålder och den kumulativa incidensen av klinisk diabetes vid 10 års ålder (65). TRIGR-studien har fram till slutet av september 2006 rekryterat 2 064 barn som uppfyller HLA-kriterierna; rekryteringen av nya familjer kommer att avslutas i och med utgången av år 2006. Det slutgiltiga svaret på forskningsfrågan kommer att fås tidigast år 2012 och senast år 2016.

Som vi tidigare har nämnt, pekar flera studier på att brist på vitamin D kan vara en riskfaktor för typ 1-diabetes. En europeisk multicenterstudie visade att vitamin D supplementering i spädbarnsåldern minskar risken för senare insjuknande i typ 1-diabetes (66). En finländsk födelsekohortstudie rapporterade att både oregelbunden och regelbunden

supplementering med vitamin D i spädbarnsåldern reducerade risken att utveckla typ 1-diabetes, medan misstanke om raktitis före 2 års ålder ökade sannolikheten för insjuknande i diabetes (67). Ökad viktuppgång i spädbarnsåldern har upprepade gånger observerats att vara en riskfaktor för senare typ 1-diabetes (60). En inhemsk studie fann att de barn som utvecklade typ 1-diabetes, var både tyngre och längre i spädbarnsåldern i jämförelse med barn som förblev friska (68). Ökad längd och vikt senare i barndomen framkom också som definitiva riskfaktorer för typ 1-diabetes (69). Snabb längdtillväxt och viktuppgång leder till försämrad insulinsensitivitet och ökar därmed belastningen på de insulinproducerande betacellerna. Experimentella studier har visat att aktiva och stressade betaceller skadas lättare av proinflammatoriska cytokiner än ostressade betaceller. Enligt acceleratorhypotesen, som introducerades för några år sedan av Wilkin (3), är insulinresistens en viktig faktor som bidrar till den ökande incidensen av både typ 1- och typ 2-diabetes. De enda skillnaderna mellan de två diabetesformerna är enligt Wilkin den, att de personer som utvecklar typ 1-diabetes progredierar snabbare till klinisk sjukdom och bär genetisk benägenhet för autoimmunitet.

Varför ökar diabetesincidensen i de industrialiserade länderna?

Incidensen för typ 1-diabetes har utan tvivel ökat avsevärt bland barn i de flesta utvecklade länderna efter andra världskriget (2). Det är omstritt huruvida ökningen avspeglar en populationsomspännande incidensuppgång eller om den reflekterar en sjunkande debutålder. En svensk studie tyder på det senare, eftersom den inte fann någon förändring i totalincidensen bland personer under 35 år under en tidsperiod på 16 år (70). Däremot sjönk den genomsnittliga diagnosåldern hos både män och kvinnor. Preliminära rön från en analys av finländska data angående typ 1-diabetes diagnostiserad före 30 års ålder tyder på både en incidensökning i den totala kohorten och en yngre debutålder (Reunanen, A., muntligt meddelande).

I fråga om enterovirusinfektioner har det konstaterats att sådana infektioner är ovanligare i länder med en hög diabetesincidens och att infektionerna med tiden har blivit ovanligare i både Finland och Sverige (71). Den här observationen förefaller stå i strid

med den tankegången att sjukdomsprocessen utlöses av en diabetogen enterovirusinfektion. Erfarenheter från början av 1900-talet av polioinfektioner kan bidra till att kasta ljus över den förmodade konflikten. De tre poliovirusserotyperna hör till enterovirusgruppen. När hygienivån förbättrades i en rad länder i början av senaste århundrade, minskade antalet polioinfektioner bland befolkningen medan antalet polioparalyser ökade. Orsaken var att den minskande frekvensen av polioinfektioner ledde till att det nyfödda barnet transplacentalt och det diande spädbarnet via bröstmjölken av modern fick ett svagare antikroppsskydd mot polioinfektioner. Detta resulterade i att barnet insjuknade i en tidigare ålder och utvecklade en allvarligare infektion med en ökad komplikationsfrekvens i form av polioparalyser. Vi upplever nu sannolikt samma situation när det gäller diabetogena enterovirusinfektioner med reducerade koncentrationer av skyddande maternala enterovirusantikroppar samt med fler och allvarligare tidiga enterovirusinfektioner som kan resultera i komplikationer i form av typ 1-diabetes (71).

Om vi akcepterar hypotesen att bovint insulin kunde vara den pådrivande dietära antigenen i typ 1-diabetes, kan vi spekulera i att den ökade användningen av industriellt behandlade mjölkprodukter kan öka immunogeniciteten hos olika mjölkproteiner, inklusive bovint insulin. Barn i de utvecklade länderna växer snabbare och går snabbare upp i vikt än tidigare. Som exempel kan nämnas att det genomsnittliga viktindexet ("body mass index", BMI) hos finländska 15-åringar steg från 20 kg/m² år 1980 till 21,3 kg/m² år 1992. Detta innebär en avsevärd ökning, och om utvecklingen fortsätter kommer viktindexmedeltalet att nå 25 kg/m² år 2030. Snabb längdtillväxt och viktuppgång leder till betacellsstress och kan därmed medföra en sänkt debutålder samt att en ökande andel av poolen med predisponerade individer progredierar till klinisk diabetes. Som en förklaring till den ökande diabetesincidensen har hygienhypotesen nyligen lanserats (72). Det är lätt förståeligt att en minskad mikrobbelastning i spädbarnsåldern kan påverka den tidiga programmeringen av immunsystemet. Det här området kräver dock mer epidemiologisk forskning för att utvärdera sambandet mellan specifika infektioner samt olika autoimmuna och atopiska sjukdomar.

Slutsatser

Identifieringen av de yttre faktorer som utlöser och/eller driver på den diabetogena sjukdomsprocessen ger möjligheter till intervention för att förebygga utvecklingen av typ 1-diabetes. Modifikation av yttre riskfaktorer erbjuder sannolikt den bästa strategin för att effektivt förebygga typ 1-diabetes. Det beror på att sådana åtgärder kan inriktas antingen på hela befolkningen eller åtminstone på den del som på ärftliga grunder är benägen att insjukna i typ 1-diabetes. Därmed kan man förebygga både sporadisk och familjär typ 1-diabetes. Detta är en central frågeställning, eftersom sporadiska fall utgör 83–98 procent av alla barn med nydiagnostiserad typ 1-diabetes (73). Resultaten från TRIGR-pilotstudien tyder på att det är möjligt att manipulera spontan betacellsautoimmunitet genom dietär intervention i spädbarnsåldern. Detta representerar den första indikationen på att det är realistiskt att tänka sig att man kan påverka det naturliga sjukdomsförloppet genom att modifiera barnets miljöfaktorer.

Det är viktigt att komma ihåg att interaktioner mellan genetiska och yttre faktorer är verksamma i alla faser av sjukdomsprocessen vid typ 1-diabetes och inte enbart i inledningsfasen av processen. Utvärderingen av sådana interaktioner är utmanande och förutsätter både nya metodologiska arbetsredskap och tillräckligt stora studiekohorter. Hittills har det funnits bara en handfull interaktioner mellan genetiska och yttre faktorer som har identifierats som potentiella riskfaktorer för typ 1-diabetes. Ett par fallkontrollstudier pekar på möjligheten att det finns en interaktion mellan den HLA-definierade genetiska benägenheten och tidig introduktion av komjölksbaserad modersmjölksersättning vid uppkomsten av typ 1-diabetes (74, 75). En finländsk studie talar för att den ökade diabetesrisken förknippad med mjölkkonsumtionen senare i barndomen är högre hos syskon till barndiabetiker som bär på HLA-genotyper som medför hög eller moderat sjukdomsrisk än hos syskon med lågriskgenotyp (49). HLA-riskgenotyp förefaller att öka risken för serokonversion av autoantikroppar efter en enterovirusinfektion (39) och leda till en starkare immunrespons på en akut enterovirusinfektion (76). Ett annat scenario som också bör beaktas, är att det kan finnas samverkan mellan två eller flera yttre faktorer. En finländsk studie visade att två yttre riskfaktorer för typ 1-diabetes, dvs. en tidig

enterovirusinfektion och tidig introduktion av komjölksbaserad modersmjölksersättning, samverkade och förstärkte immunresponserna på bovint insulin hos spädbarn med HLA-medierad sjukdomsbenägenhet (77).

Den främsta utmaningen inom den närmaste framtiden är att på ett pålitligt sätt identifiera de faktorer som utlöser och driver på den diabetogena sjukdomsprocessen. För två år sedan etablerades ett internationellt konsortium i syfte att med ett intensivt uppföljningsprogram från födelsen monitorera barn med HLA-medierad ärftlig benägenhet. I programmet ingår sex födelsekohortstudier (bl.a. den tyska BABYDIAB-studien, den amerikanska DAISY-studien och den finländska DIPP-studien) (78). Det här TEDDY-konsortiet (The Environmental Determinants of Diabetes in the Young), som finansieras av det amerikanska hälsoinstitutet (National Institutes of Health), utgör en optimal struktur för att man ska kunna analysera kritiska yttre faktorer som bidrar till utvecklingen av diabetes. Samtidigt bör vi komma ihåg att det förutom yttre riskfaktorer även finns skyddande miljöfaktorer som kan förhindra att högriskindivider insjuknar i typ 1-diabetes. Identifieringen av sådana skyddande faktorer kan ge nya inblickar i hur det vore möjligt att förebygga utvecklingen av typ 1-diabetes.

Referenser

1. Somersalo O. Studies on childhood diabetes. I. Incidence in Finland. *Ann Paediatr Fenn* 1954-1955;1:239-249.
2. Gale EA. The rise of childhood type 1 diabetes in the 20th century. *Diabetes* 2002;51:3553-61.
3. Wilkin TJ. The accelerator hypothesis: weight gain as the missing link between type 1 and type 2 diabetes. *Diabetologia* 2001;44:914-922.
4. Kondrashova A, Reunanen A, Romanov A, Karvonen A, Viskari H, Vesikari T, oa. A sixfold gradient in the incidence of type 1 diabetes at the eastern border of Finland. *Ann Med* 2005;37:67-72.
5. Gale EAM. Spring harvest? Reflections on the rise of type 1 diabetes. *Diabetologia* 2005;48:2445-50.
6. Dahlquist G. Can we slow the rising incidence of childhood-onset autoimmune diabetes? The overload hypothesis. *Diabetologia* 2006;49:20-24.
7. Strachan DP. Family size, infection and atopy: The first decade of the „hygiene hypothesis“. *Thorax* 2000;55, Suppl 1:S2-10.
8. Ilonen J, Sjöroos M, Knip M, Veijola R, Simell O, Åkerblom HK, oa. Estimation of genetic risk for type 1 diabetes. *Am J Med Genet* 2002;115:30-36.
9. Lucassen AM, Julier C, Beressi JP, Boitard C, Froguel P, Lathrop M, oa. Susceptibility to insulin dependent diabetes mellitus maps to a 4.1 kb segment of DNA spanning the insulin gene and associated VNTR. *Nat Genet* 1993;4:305-310.
10. Vafiadis P, Bennett ST, Todd JA, Nadeau J, Grabs R, Goodyer CG, oa. Insulin expression in human thymus is modulated by INS VNTR alleles at the IDDM2 locus. *Nat Genet* 1997;15:289-292.

Även om vi under de senaste 10-20 åren har fått nya kunskaper om patogenesen vid typ 1-diabetes och (på sätt och vis) kommit närmare en lösning av diabetesgåtan, saknas det ännu en rad pusselbitar för att skapa en helhetsbild. Fortsatt forskning med väl definierade frågeställningar, tillräckliga studiekohorter och modern teknik skapar förutsättningar för att vi skall kunna knäcka diabetesnöten inom de kommande 10-20 åren.

Tack

Författarnas studier har stötts bl.a. av Juvenile Diabetes Research Foundation (JDRF), National Institute of Child Health and Development (NICHD), National Institute of Diabetes, Digestive and Kidney Disease (NIDDK), Forskningsrådet för hälsa vid Finlands Akademi, Sigrid Jusélius Stiftelse, Diabetesforskningsstiftelsen i Finland, Finska Läkaresällskapet, Liv och Hälsa samt Novo Nordisk Fonden.

Prof. Mikael Knip

Barn- och ungdomskliniken

PB 22

00014 Helsingfors universitet

mikael.knip@helsinki.fi

11. Hermann R, Laine AP, Lähde J, Veijola R, Simell O, Knip M, oa. The effect of HLA class II, insulin and CTLA4 gene regions on the development of humoral β -cell autoimmunity. *Diabetologia* 2005 48:1766-75.
12. Ueda H, Howson JM, Esposito L, Heward J, Snook H, Chamberlain G, oa. Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature* 2003;423:506-511.
13. Bottini N, Musumeci L, Alonso A, Rahmouni S, Nika K, Rostamkhani M, oa. A functional variant of lymphoid tyrosine phosphatase is associated with type I diabetes. *Nat Genet* 2004; 6: 337-338.
14. Vella A, Cooper JD, Lowe CE, Walker N, Nutland S, Widmer B, oa. Localization of a type 1 diabetes locus in the ILRA/CD25 region by use of tag single-nucleotide polymorphisms. *Am J Hum Genet* 2005;76:773-779.
15. Smyth DJ, Cooper JD, Bailey R, Field S, Burren O, Smink LJ, oa. A genome-wide association study of nonsynonymous SNPs identifies a type 1 diabetes locus in the interferon-induced helicase (IFIH1) region. *Nature Gen* 2006;38:617-619.
16. Knip M. Can we predict type 1 diabetes in the general population? *Diabetes Care* 2002;25:623-625.
17. Ziegler A-G, Hummel M, Schenker M, Bonifacio E. Autoantibody appearance and risk for development of childhood diabetes in offspring of parents with type 1 diabetes: the 2-year analysis of the German BABYDIAB Study. *Diabetes* 1999;48:460-468.
18. Kimpimäki T, Kupila A, Hämäläinen A-M, Kukko M, Kulmala P, Savola K, oa. The first signs of β -cell autoimmunity appear

- in infancy in genetically susceptible children from the general population: The Finnish Type 1 Diabetes Prediction and Prevention Study. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:4782–88.
19. Kukko M, Kimpimäki T, Korhonen S, Kupila A, Simell S, Veijola R, oa. Dynamics of diabetes-associated autoantibodies in young children with HLA-conferred risk of type 1 diabetes recruited from the general population. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:2712–17.
 20. Knip M. Natural course of preclinical type 1 diabetes. *Horm Res* 2002;57, Suppl 1:6–11.
 21. Kupila A, Muona P, Ronkainen M, Simell T, Erkkilä S, Arvilommi P, oa. Genetic risk determines the emergence of diabetes-associated autoantibodies in young children. *Diabetes* 2002; 51:646–651.
 22. Mrena S, Savola K, Kulmala P, Åkerblom HK, Knip M, the Childhood Diabetes in Finland Study Group. Natural course of preclinical Type 1 diabetes in siblings of affected children. *Acta Paediatr* 2003;92:1403–10.
 23. Kimpimäki T, Kulmala P, Savola K, Vähäsalo P, Reijonen H, Ilonen J, oa. Disease-associated autoantibodies as surrogate markers of type 1 diabetes in young children at increased genetic risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:1126–30.
 24. Barnett AH, Eff C, Leslie RDG, Pyke DA. Diabetes in identical twins. A study of 200 pairs. *Diabetologia* 1981;20:87–93.
 25. Kaprio J, Tuomilehto J, Koskenvuo M, Romanov K, Reunanen A, Eriksson J, oa. Concordance for Type 1 (insulin-dependent) and Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in a population-based cohort of twins in Finland. *Diabetologia* 1992;35:1060–67.
 26. The EURODIAB ACE Study Group. Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe. *Lancet* 2000;355:875–876.
 27. Hermann R, Knip M, Veijola R, Simell O, Laine AP, Åkerblom HK, oa. Temporal changes in the frequencies of HLA genotypes in patients with type 1 diabetes – indication of an increased environmental pressure? *Diabetologia* 2003;46:420–425.
 28. Knip M, Veijola R, Virtanen SM, Hyöty H, Vaarala O, Åkerblom HK. Environmental triggers and determinants of β -cell autoimmunity and type 1 diabetes. *Diabetes* 2005;54, Suppl 2:S125–S136.
 29. Leslie RD, Delli Castelli M. Age-dependent influences on the origins of autoimmune diabetes: evidence and implications. *Diabetes* 2004;53:3033–40.
 30. Alaedini A, Green PH. Narrative review: celiac disease: understanding a complex autoimmune disorder. *Ann Intern Med* 2005;142:289–298.
 31. Mäki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T, oa. Prevalence of celiac disease in children in Finland. *N Engl J Med* 2003;348:2517–24.
 32. Kagnoff MF, Paterson YJ, Kumar PJ, Kasarda DD, Carbone FR, Unsworth DJ, oa. Evidence for the role of human intestinal adenovirus in the pathogenesis of celiac disease. *Gut* 1987;28:995–1001.
 33. Lähdeaho ML, Parkkonen P, Reunala T, Mäki M, Lehtinen M. Antibodies to the E1b protein-derived peptides of enteric adenovirus type 40 are associated with celiac disease and dermatitis herpetiformis. *Clin Immunol Immunopathol* 1993;69:300–305.
 34. Kukko M, Toivonen A, Kupila A, Korhonen S, Keskinen P, Veijola R, oa. Familial clustering of beta-cell autoimmunity in initially non-diabetic children. *Diabetes Metab Res Rev* 2006;22: 53–58.
 35. Viskari H, Kondrashova A, Koskela P, Knip M, Hyöty H. Circulating vitamin D concentrations in two neighboring populations with markedly different incidence of type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2006;49:1458–59.
 36. Käär M-L, Åkerblom HK, Huttunen N-P, Knip M, Säkkinen K. Metabolic control of children and adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus *Acta Paediatr Scand* 1984;73:102–108.
 37. Hinde FR, Standen PJ, Mann NP, Johnston DI. Seasonal variation of haemoglobin A1 in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Pediatr* 1989;148:146–147.
 38. Hyöty H, Hiltunen M, Knip M, Laakkonen M, Vähäsalo P, Karjalainen J, oa. A prospective study of the role of Coxsackie B and other enterovirus infections in the pathogenesis of IDDM. *Diabetes* 1995;44:652–657.
 39. Hiltunen M, Hyöty H, Knip M, Ilonen J, Reijonen H, Vähäsalo P, oa. ICA seroconversion in children is temporally associated with enterovirus infections. *J Infect Dis* 1997;175:554–560.
 40. Lönnrot M, Salminen K, Knip M, Savola K, Kulmala P, Leinikki P, oa. Enterovirus RNA in serum is a risk factor for beta-cell autoimmunity and clinical type 1 diabetes: a prospective study. *J Med Virol* 2000;61:214–220.
 41. Lönnrot M, Korpela K, Knip M, Ilonen J, Simell O, Korhonen S, oa. Enterovirus infection as a risk factor for β -cell autoimmunity in a prospectively observed birth cohort- The Finnish Diabetes Prediction and Prevention (DIPP) Study. *Diabetes* 2000;49:1314–18.
 42. Salminen K, Sadeharju K, Lönnrot M, Vähäsalo P, Ilonen J, Simell O, oa. Enterovirus infections are associated with the induction of beta-cell autoimmunity in a prospective birth cohort study. *J Med Virol* 2003;69:91–98.
 43. Streng J. Over de beoordeling van de voedingstoestand in de praktijk (in Dutch, summary in English). *Maandschrift v Kindergen* 1946;14:67–78.
 44. Kim CY, Quarsten H, Bergseng E, Khosla C, Sollid LM. Structural basis for HLA-DQ2-mediated presentation of gluten epitopes in celiac disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101: 4175–79.
 45. Sabbah E, Savola K, Ebeling T, Kulmala P, Vähäsalo P, Salmela P, oa. Genetic, autoimmune, and clinical characteristics of childhood- and adult-onset Type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2000;23:1326–32.
 46. Vaarala O, Knip M, Paronen J, Hämäläinen A-M, Muona P, Väättäinen M, oa. Cow milk formula feeding induces primary immunization to insulin in infants at genetic risk for type 1 diabetes. *Diabetes* 1999;48:1389–94.
 47. Verge CF, Howard NJ, Irwig L, Simpson JM, Mackerras D, Silink M. Environmental factors in childhood IDDM: a population-based case-control study. *Diabetes Care* 1994;17:1381–89.
 48. Virtanen SM, Hyppönen E, Läärä E, Vähäsalo P, Kulmala P, Savola K, oa. Cow's milk consumption, disease associated autoantibodies and Type 1 diabetes mellitus: A follow-up study in siblings of diabetic children. *Diabetic Med* 1998;15:730–738.
 49. Virtanen SM, Läärä E, Hyppönen E, Reijonen H, Räsänen L, Aro A, oa. Cow's milk consumption, HLA-DQB1 genotype, and type 1 diabetes: a nested case-control study of siblings of children with diabetes. *Diabetes* 2000;49:912–917.
 50. Dahlquist GG, Blom L, Persson L-Å, Sandström AIM, Wall SGI. Dietary factors and the risk of developing insulin dependent diabetes in childhood. *Br Med J* 1990;300:1302–06.
 51. Norris JM, Barriga K, Klingensmith G, Hoffman M, Eisenbarth GS, Erlich HA, oa. Timing of initial cereal exposure in infancy and risk of islet autoimmunity. *JAMA* 2003;290:1713–20.
 52. Ziegler A-G, Schmid S, Huber D, Hummel M, Bonifacio E. Early infant feeding and risk of developing Type 1 diabetes-associated autoantibodies. *JAMA* 2003;290:1721–28.
 53. Hummel M, Bonifacio E, Naserke HE, Ziegler AG. Elimination of dietary gluten does not reduce titers of type 1 diabetes-associated autoantibodies in high-risk subjects. *Diabetes Care* 2002;25:1111–16.
 54. Pastore MR, Bazzigaluppi E, Belloni C, Arcovio C, Bonifacio E, Bosi E. Six months of gluten-free diet do not influence autoantibody titers, but improve insulin secretion in subjects at high risk for type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;288:162–165.
 55. Harrison LC, Honeyman MC. Cow's milk and type 1 diabetes: the real debate is about mucosal immune function. *Diabetes* 1999;48:1501–07.
 56. Vaarala O. The gut immune system and type 1 diabetes. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 958: 39–46.
 57. Vaarala O. Intestinal immunity and type 1 diabetes. *J Pediatr Gastroenterol Metab* 2004;39, Suppl 3:S732–S733.
 58. Westerholm-Ormio M, Vaarala O, Pihkala P, Ilonen J, Savilahti E. Immunological activity in the small intestinal mucosa of pediatric patients with type 1 diabetes. *Diabetes* 2003;52:2287–95.
 59. Auricchio R, Paparo F, Maglio M, Franzese A, Lombardi F, Valerio G, oa. In vitro-deranged intestinal immune response to gliadin in type 1 diabetes. *Diabetes* 2004;53:1680–83.
 60. Virtanen SM, Knip M. Nutritional risk predictors of β cell autoimmunity and type 1 diabetes at a young age. *Am J Clin Nutr* 2003;78:1053–67.
 61. Åkerblom HK, Knip M. Putative environmental factors in type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 1998;14:31–67.
 62. Gerstein HM. Cow's milk exposure and Type 1 diabetes mellitus; a critical overview of the clinical literature. *Diabetes Care* 1994;17:13–19.
 63. Virtanen SM, Kenward MG, Erkkola M, Kautiainen S,

-
- Kronberg-Kippilä C, Hakulinen T, oa. Age at introduction of new foods and advanced beta-cell autoimmunity in young children with HLA-conferred susceptibility to type 1 diabetes. *Diabetologia* 2006;49:1512–21.
64. Åkerblom HK, Virtanen SM, Ilonen J, Savilahti E, Vaarala O, Reunanen A, oa. Dietary manipulation of beta-cell autoimmunity in infants at increased risk for type 1 diabetes. *Diabetologia* 2005;48:829–837.
65. The TRIGR Study Group. The TRIGR Trial: testing the potential link between weaning diet and type 1 diabetes. *Curr Med Chem* 2006;13:i tryck.
66. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. Vitamin D supplement in early childhood and risk of Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1999;42:51–54.
67. Hyppönen E, Läärä E, Järvelin MR, Virtanen SM. Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth cohort study. *Lancet* 2001;358:1500–04.
68. Hyppönen E, Kenward MG, Virtanen SM, Piitulainen A, Virta-Autio P, Knip M, oa. Infant feeding, early weight gain and risk of type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999;22:1961–65.
69. Hyppönen E, Virtanen SM, Kenward MG, Knip M, Åkerblom HK, the Childhood Diabetes in Finland Study Group. Obesity, increased linear growth and risk of type 1 diabetes mellitus in children. *Diabetes Care* 2000;23:1755–60.
70. Pundziute-Lycka A, Dahlquist G, Nyström L, Arnqvist H, Bjork E, Blohme G, oa. The incidence of Type 1 diabetes has not increased but shifted to younger age at diagnosis in the 0-34 years group in Sweden 1983-98. *Diabetologia* 2002;45:783–991.
71. Viskari H, Ludvigsson J, Uibo R, Salur L, Marciulionyte D, Skrodediene E, oa. Relationship between the incidence of type 1 diabetes and maternal enterovirus antibodies – time trends and geographical variation. *Diabetologia* 2005;48:1280–87.
72. Bach JF. The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases. *New Engl J Med* 2002;347:911–920.
73. The EURODIAB ACE Study Group and The EURODIAB ACE Substudy 2 Study Group. Familial risk of Type I diabetes in European children. *Diabetologia* 1998;41:1151–56.
74. Kostraba JN, Cruickshanks KJ, Lawlerheavner J, Jobim LF, Rewers MJ, Gay EC, oa. Early exposure to cow's milk and solid foods in infancy, genetic predisposition, and risk of IDDM. *Diabetes* 1995;42:288–295.
75. Pérez-Bravo F, Carrasco E, Gutierrez-Lopez MD, Martinez MT, Lopez G, de los Rios MG. Genetic predisposition and environmental factors leading to the development of insulin-dependent diabetes mellitus in Chilean children. *J Mol Med* 1996;74:105–109.
76. Sadeharju K, Knip M, Hiltunen P, Åkerblom HK, Hyöty H, the Childhood Diabetes in Finland Study Group. The HLA-DR phenotype modulates the humoral immune response to enterovirus antigens. *Diabetologia* 2003;46:1100–05.
77. Vaarala O, Klemetti P, Juhela S, Simell O, Hyöty H, Ilonen J. Effect of coincident enterovirus infection and cow's milk exposure on immunisation to insulin in early infancy. *Diabetologia* 2002;45:531–534.
78. TEDDY Study Investigators. TEDDY – the environmental determinants of diabetes in the young – an observational clinical study. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1079, i tryck.

Tack

Vi vill på det varmaste tacka alla som genom en inbetalning till Finska Läkaresällskapets Verksamhetsfond velat hedra minnet av professor Teddy Scheinin.

Familjen Scheinin