

DA LI SE TIP 1 DIJABETESA MOŽE PREVENIRATI?

dr Saša Živić, dr Sandra Stanković, dr Jelena Vučić

Klinika za dečje interne bolesti Kliničkog centra u Nišu

Prevenција dečjeg i dijabetesa mladih može se sprovesti na tri nivoa: primarnom, sekundarnom i tercijarnom.

Primarna prevencija podrazumeva izbegavanje izlaganja štetnim faktorima okoline, posebno rano u životu, čime se potencira značaj pedijatrije i pedijatrijske dijabetologije.

Sekundarna prevencija podrazumeva postupke koji se sprovode kada je već konstituisana autoimuna reakcija, a koji mogu da smanje magnitudu autoimune destrukcije beta ćelije ili je čak u potpunosti prekinu, te na taj način odlože ili ublaže pojavu dijabetesa tipa 1.

Tercijarna prevencija podrazumeva sve postupke sprovedene nakon kliničke prezentacije dijabetesa koji mogu da smanje gubitak beta insularnih ćelija ili čak učine reverziju gubitka.

PRIMARNA PREVENCIJA

Izbegavanje izlaganja štetnim faktorima okoline predstavlja najraniji, najvažniji i najuspešniji način prevencije dijabetesa dece i mladih. Na važnost faktora okoline u nastanku dijabetesa svedoče brojne činjenice: rizik od razvoja dijabetesa u drugog identičnog blizanca od samo 20-50%, različita incidenca oboljevanja najbližih srodnika koji žive u drugačijim socioekonomskim uslovima ili u različitim zemljama, i brojne druge. Pre svega može se organizovati u onih koji su u riziku za nastanak dijabetesa. Najšire, danas se to može tumačiti postojanjem dijabetesa tipa 1 u najbližoj porodici, a najkonkretnije određivanjem u takve populacije onih sa najrizičnijim HLA haplotipovima. Genetski markeri (DRB1, DQA1 i DQB1) koji u kombinaciji sa serološkim markerima ukazuju na visoki rizik za razvoj tipa 1 dijabetesa su HLA DR3 - DQA1*0501 - DQB1* 0201 i HLA DR4 - DQA1*0301 - DQB1* 0302, a oni koji ga isključuju - HLA DR2 - DQA1*0102 - DQB1* 0602. U TEDDY studiji 8686 dece sa visokim rizikom za dijabetes (rizični DQ haplotipovi), prate se od rođenja do 15. godine života. Analizira se uticaj različitih faktora okoline (virusi) i progresija javljanja autoimunih autoantitela u zavisnosti od prisutnosti HLA ili nekih drugih rizičnih gena. Ova studija pokazuje da različiti faktori okoline aktiviraju autoimuni odgovor već u prve tri godine života. U uzrastu do 8 godina više od 400 njih imaju autoimuna autoantitela, ali samo 150 njih do sada razvija dijabetes (1).

PRIRODNA ISHRANA

Dojenje deluje protektivno u smislu razvoja dijabetesa dece: ne samo zbog toga što je idealna preventivna mera protiv gojaznosti, već i zbog toga što je dobra prevencija autoimunosti, obzirom da onemogućava rani unos proteina kravljeg mleka stranih organizmu (2).

Kako terapija gojaznosti ima ograničene domete, sve veća pažnja se poklanja prevenciji već u prvim mesecima života. Stepenn protektivnosti dojenja je u direktnoj korelaciji sa njegovom dužinom - svaki mesec dojenja u prvih 9 meseci smanjuje rizik od pojave gojaznosti za 4%. Novorođenčad i odojčad na prirodnoj ishrani u prvih 6 meseci života unesu samo polovinu proteina u odnosu na onu koja se hrane adaptiranim formulama. Adaptirane formule svojim

visokim proteinskim sadržajem promovišu rani ubrzani razvoj kostiju, miškulature i veziva. Ovakva rana inicijacija rasta je značajan podsticaj za kasnije konstituisanje gojaznosti.

Novorođenčad koja se hrane adaptiranim formulama imaju 10-18% veći energetska unos nego dojena deca, te su od njih svakog meseca u proseku 85gr teža. Ovo znači da su na kraju šestog meseca 600-650gr teža od dece na prirodnoj ishrani. Kako u šestom mesecu postoji fiziološki povećana aktivnost PPAR- γ , svako dalje prehranjivanje uslovljava još veću njegovu aktivnost i dovodi do trajne hiperplastične gojaznosti. Zbog toga je za konstituisanje kasnije gojaznosti kritičan period od 4. do 6. meseca (3).

Razlika u masno kiselinskom sastavu majčinog i adaptiranog mleka takođe objašnjava preventivni uticaj dojenja na nastanak gojaznosti. Majčino mleko ima visoki procenat omega 3 masnih kiselina koje deluju antiobezigeno i antiinflamatorno (inhibiraju produkciju TNF- α u adipocitima). Adaptirane formule sa većim procentom omega 6 masnih kiselina aktiviraju transkripcioni faktor PPAR- γ i time omogućavaju terminalnu diferencijaciju adipocita. Stoga veći odnos omega 6/omega 3 masnih kiselina u adaptiranim formulama promovise rast adipocita i inflamaciju, odnosno favorizuju gojaznost. TrialNet studijska grupa dokazuje da se ranom suplemenacijom omega 3 masnih kiselina prevenira autoimunost unutar insula u osoba sa rizikom za razvoj dijabetesa tipa 1.

Leptin je hormon adipocita koji se vezuje za melanokortinske receptore u CNS-u i smanjuje apetit, a ujedno aktivira lipolizu i povećava potrošnju energije na periferiji. Na ovaj način leptin postaje principalni hormon sitosti - leptina nema u adaptiranim formulama, dok mu je koncentracija u majčinom mleku značajna. Stoga, majčino mleko bogato leptinom deluje protektivno na nastanak gojaznosti.

Proteini kravljeg mleka mogu biti važna karika patogenetskog lanca jer dele neke antigenske epitope sa površinskim β -ćelijskim proteinima. Kravlje mleko ima veći procenat ukupnih belančevina (3.4% prema 0.9%) te veću količina proteinskog nitrogena (uglavnom na račun kazeina), a pre svega neke specifične belančevine koje se u humanom mleku ne otkrivaju, kakve su β -laktoglobulin (BLG) i bovini serumski albumin (BSA). Antitela na bovini serumski albumin otkrivaju se gotovo u svih sa novodijagnostikovanim juvenilnim dijabetesom.

TRIGR - primarna preventivna studija upravo ispituje da li uklanjanje visoko hidrolizovanih formula smanjuje incidencu tipa 1 dijabetesa i biće završena 2017.godine. FINDIA studija dokazuje da izbegavanje formula i mleka sa bovinim insulinom kumulativno za tri godine smanjuje prisutnost autoimunih autoantitela za 60% (2).

NUTRITIVNI AGENTI

Veliki broj dokaza ubedljivo govore u prilog ključne uloge nutritivnih faktora u razvoju dijabetesa dece, pre svega tipa 1.

Rano uvođenje cerealija, preko aktivacije autoagresivnog T ćelijskog mehanizma okrivljuje se za nastanak dijabetesa dece. Studije pokazuju da rano uvođenje cerealija ili glutena - ne samo pre trećeg meseca života (što je ionako protiv svih pedijatrijskih preporuka) već i kasnije - posle sedmog meseca života, može biti rizik faktor za razvoj dijabetesa tipa 1.

Činjenica visoke pridruženosti dijabetesa tipa 1 i celijačne bolesti opravdava sumnju da gluten može biti važan autoantigen za razvoj dijabetesa i kasnije u životu. Visoka pridruženost ove dve bolesti posledica je idenetičnog genetskog opterećenja - HLA-DQB1*0302 alela. Mada je u 60% slučajeva dijagnoza celijakije postavljena pre trenutka postavljanja dijagnoze dijabetesa, u preostalih 40% dijagnoza celijakije kasni godinama za dijabetesom. Pokazano je da u pacijenata sa celijakijom bezglutenska dijeta redukuje i titar autoantitela na insulin (IAA) i incidencu dijabetesa. BABYDIET studija pokazuje da odlaganje uvođenja glutena u rođaka obolelih od dijabetesa tipa 1 sa visoko rizičnim HLA haplotipom može biti protektivno na razvoj insularne autoimunosti (4).

Slično dokazuje i finska studija, kada je u pitanju rano uvođenje voća, posebno bobičastog i korenastog.

NEDOSTATAK VITAMINA D

Brojni su dokazi da nedovoljna biorasploživost aktivne forme vitamina D može uvećati rizik za nastanak tipa 1 dijabetesa. Sa ovim u vezi je i činjenica da je bolest češća u krajevima sa malo sunčanih dana na severu. Dobro je poznato da je defekt supresorske potencije T ćelijskog sistema česti permisivni faktor nastanka brojnih autoimunih bolesti, pa i tipa 1 dijabetesa. Obzirom da regulatorni supresorni limfociti na površini imaju receptore za aktivnu formu vitamina D jasna je hipotetička povezanost karence u ovom vitaminu i povećanog rizika za nastanak bolesti. Takođe, evidentno je da ovaj vitamin preusmerava citokinski odgovor od Th1 ka protektivnom Th2 putu. Stimulišući aktivnost TGF β -1 (transforming growth factor β -1) i IL-4 (interleukin-4) odnosno redukujući aktivnost IL-12 (interleukin-12) vitamin D apatira magnitudu inflamatornog Th1 odgovora, a preko indukcije stvaranja IL-10 potencira protektivni Th2 put i tako smanjuje incidencu tipa 1 dijabetesa. U urođenoj imunosti vitamin D inhibira aktivnost dendritičnih ćelija i ima značajnu antibakterijsku i antinflamatornu ulogu preko aktiviranja katelicidina i toll-like receptora 4. I ne najmanje važno, danas se poznato zna da β -insularne ćelije na svojoj membrani eksprimiraju receptore za vitamin D. Efektorni deo ovog receptora nazvan kalbindin D_{28k} štiti β -ćelije od Th1 citokinskog oštećenja ali i od indukovane apoptoze. Aktivna forma vitamina D je i direktni oponent aktivnosti interferona- γ : obara ekspresiju MHC antigena, molekula CD 54 (adhesioni molekul ICAM) i molekula CD86 (kostimulatorni molekul), čime dodatno štiti endokrini pankreas. Na taj način polimorfizam vitamina D receptora postaje novi mogući genetski marker bolesti (Motohashi Y et al, 2003). U skorašnjim dobro dokumentovanim studijama na više stotina ispitanika pokazuje se da niži nivoi 25-hidroksi vitamina D (ispod 75 nmol/l) uvećavaju rizik za nastanak dijabetesa mladih za 44% (5). Stoga svetsko endokrinološko udruženje preporučuje u rizičnoj grupi ranu i prolongiranu suplementaciju ovim vitaminom (6).

RANA EDUKACIJA MUKOZA - HIGIJENSKA HIPOTEZA

Higijenska hipoteza takođe ukazuje na puteve moguće prevencije ove bolesti. Faktori okoline neosporno mogu da povećaju rizik za nastanak dijabetesa tipa 1 ali nekada mogu i da obezbede zaštitu od ove bolesti! Sa unapredjenjem javnog zdravlja i eliminacijom nekih do skoro ubikvitarnih parazita (crevni paraziti na primer), narušila se osetljiva imunološka ravnoteža Th1-Th2 odgovora. Dolazi do značajnog smanjenja aktivnosti protektivnog Th2 odgovora i

dominacije inflamatornog Th1 - onog koji omogućava nastanak insulin zavisnog dijabetesa. Tako je evidentno da dijabetes inverzno koreliše sa prisustvom enterobiusa: visoka incidenca dijabetesa tipa 1 u Finskoj (prokuženost enterobiusom 5%), mala u Švedskoj (enterobius 24%) i najmanja u Istočnoj Evropi (enterobius preko 35%). Ponovo se pokazuje da "rana edukacija mukoznog imunog sistema" može biti veoma važna u patogenezi bolesti. U tom smislu uvođenje antibiotika u najranijem uzrastu može "okrenuti" imuni odgovor ka Th1 putu i indukciji dijabetesa (7).

ŽIVOTNI STIL, GOJAZNOST I INSULINSKA REZISTENCIJA

Prema podacima SZO na svetu ima 43 miliona gojazne dece, od čega je 80% u zemljama u razvoju. U SAD se u poslednjih 30 godina broj gojazne dece utrostručio, a slična je situacija i u Evropi. Svake godine se broj gojazne dece poveća za 400.000 - smatra se da je svako četvrto dete gojazno. U Srbiji nema toliko gojazne dece, ali je zabrinjavajuće da 15% predškolske dece ima višak kilograma, a skoro 20% mladih je gojazno.

Obzirom na rastuću incidencu dečje gojaznosti i njenu povezanost sa dečjim dijabetesom (posebno u tipu 2 dijabetesa te u mešanim formama - takozvanom "duplom" ili "hibridnom" dijabetesu), raste interesovanje i za načine prevencije insulinske rezistencije.

Kako je eksces u telesnoj masi vodeći uzrok nastanka insulinske rezistencije, dakle dečjeg dijabetesa, promene u načinu života koje bi vodile u redukciju telesne mase mogu biti principalni način prevencije rastuće incidencije dečjeg dijabetesa.

Dojenje predstavlja inicijalni način prevencije kasnije gojaznosti - stoga zalaganje za prirodnu ishranu može predstavljati važnu stratešku meru prevencije dijabetesa dece. Posebno obzirom na činjenicu da se na taj način minimalizuju i rizici aktivacije autoagresivnog T ćelijskog sistema u patogenezi dijabetesa tipa 1.

Povećanje fizičke aktivnosti dalji je način prevencije dečjeg dijabetesa. Porast potrošnje energije i porast mišićne mase indukovani povećanom fizičkom aktivnošću obezbeđuje adekvatni gubitak u telesnoj masi. Energija koja se troši u fizičkoj aktivnosti može biti ona za planiranu aktivnost (vežbanje, trčanje, plivanje...) i spontanu aktivnost (cupkanje, održavanje položaja, mišićni tonus...). Danas ne samo da je sve manje planirane fizičke aktivnosti, nego se menja i ona spontana – sedi se kada se može stajati, stoji se kada se može lagano koračati.... Postoji razlika u trošenju energije od čak 500 kalorija na dan u spontanoj fizičkoj aktivnosti gojaznih i normalno uhranjenih (8). Gojazni u proseku sede 2 sata duže nego njihovi mršavi parnjaci. Sedalni način života u savremenom društvu važan je doprinoseći faktor razvoja gojaznosti.

Plan ishrane mora da otkrije postojeće nepravilnosti i nauči koje su namirnice nepoželjne u ishrani. Osnovni princip ishrane za gojazne jeste uzimanje uravnoteženih obroka, koji obezbeđuju nutritivne potrebe organizma koji se razvija i raste. Celokupni unos masti valja da bude ograničen na najviše 30%, proteina na 15%, a ugljenih hidrata (prvenstveno složenih) na 55% ili više od ukupnog kalorijskog unosa. Smanjivanje ili eliminacija specifične hrane može da redukuje unos kalorija bez stvaranja osećanja gladi ili depresivnog raspoloženja. Manjak od samo 100 kalorija dnevno može da dovede do gubitka od oko 5 kg za godinu dana.

SEKUNDARNA PREVENCIJA

Sama činjenica da sekundarna prevencija podrazumeva postupke koje valja preduzeti onda kada se konstatuje početak autoimunog mehanizma koji će dovesti do destrukcije beta ćelija i nastanka dijabetesa, čini ovaj vid prevencije dubioznim, mada nesumnjivo veoma značajnim. Centralni problem ostaje precizno definisanje trenutka kada je autoimuna kaskada evoluirala do te mere da počinje destrukcija beta ćelija.

Za sada se rizik za početak značajnije destrukcije endokrinog pankreasa procenjuje na osnovu postojanja autominuh autoantitela. Serološki autoimuni markeri (GAD, ICA, IA-2 ili ICA 512, IAA) otkrivaju se u preko 90% slučajeva dijabetesa tipa 1 kada se javi hiperglikemija na gladno. Merenje autoimunih antitela može biti od koristi, posebno u preuhranjenih starijih od 13 godina. IAA se javljaju u 90% dijabetičara mlađih od 10 godina, ICA kod starijih dijabetičara i imaju najveću specifičnost, GAD se javljaju u kasnijoj fazi sa najvećom senzitivnošću, dok detekcija IA-2 nagoveštavaju skori početak dijabetesa. Postojanje jednog autoimunog antitela nosi 25% petogodišnjeg rizika za razvoj dijabetesa u rizičnih, postojanje 2 antitela 39%, dok detekcija 3 ili više nosi rizik od čak 75%.

Dokazano je u stupiji DPT-1 (Diabetes Prevention Trial-Type 1) da u proseku 30 meseci pre početka dijabetesa glikemija na gladno kao i 2 sata posle obroka počinje lagano i progresivno da raste, a bazalni i stimulisani C-peptid da pada. Stoga je upravo ovaj vremenski period - 30 meseci pre početka bolesti idealan za sekundarnu prevenciju (9).

U pokušaju da se prepozna ovaj period vredno pažnje može biti i određivanje nivoa glikoziliranog hemoglobina A1. Merenje GHbA1c zaista može biti od koristi, mada ne postoje dokazi koji opravdavaju rutinsko određivanje GHbA1c u dijagnozi dijabetesa. GHbA1c 6.0%-6.5% može označavati veoma visoki rizik za razvoj dijabetesa (10 puta veći od onih čiji je GHbA1c ispod 6%) i ekvivalentna je dijagnozama povećane glikemije na gladno ili poremećene tolerancije ugljenih hidrata. GHbA1c veći od 6.5% upućuje na postojanje dijabetesa.

Merenje C-peptida pouzdano je mera rezidualne endogene beta ćelijske sekrecije i preporučljivo je u sve dece (posebno u one starije od 13 godina), bez obzira da li su testirana autoantitela. C-peptid može biti jako koristan i u potvrđenom dijabetesu, obzirom da je elevacija C-peptida potpuno neuobičajena u tipu 1 dijabetesa trajanja dužeg od 12-24 meseca (10).

Sekundarna prevencija se može sprovoditi u dece sa perzistentnom autoimunonošću na ostrvcu: bez autoantigen specifične terapije - kakve su anti CD3 monoklonska antitela ili sa autoantigen specifičnom terapijom - kakvi su na primer insulin ili rekombinantni humani GAD65.

Nekoliko novih studija pokušavalo je da odgovori na ključno pitanje: šta uraditi u ovom periodu da bi se sprečila ili odložila pojava dijabetesa? ENDIT (The European Nicotine Diabetes Intervention Trial) studija nije uspela da dokaže blagotvorni uticaj suplementacije nikotinamidom. DPT-1 studija koja je ispitivala efekte rane oralne ili parenteralne insulinizacije pokazala je da ona može imati efekta posebno u onih sa visokim titrom autoimunih autoantitela. U tok je Type 1 Diabetes TrialBet studija sa nazivom "Oralni insulin za prevenciju dijabetesa u rizičnih rođaka obolelih od dijabetesa tipa 1" sa obećavajućim prvim rezultatima. Pre-POINT

studija ima istu ideju sa oarlnim ili nazalnim insulinom u populaciji dece 2-7 godina sa jednim ili više rođaka koji imaju dijabetes, sa rizičnom HLA konstalacijom ali bez autoimunih autoantitela.

Ono što je nediskutabilno vežno u ovom periodu sekundarne prevencije je dalje i striktnije insistiranje na postupcima koji su nosili i primarnu prevenciju: insistiranje na promeni životnog stila i borbi protiv gojaznosti, izbegavanje visokog unosa proteina kravljeg mleka i glutena te adekvatna suplementacije vitaminom D.

TERACIJERNA PREVENCIJA

Odavno je poznato da pacijenti sa tipom 1 dijabetesa mogu imati jako malu rezidualnu beta ćelijsku sekreciju (C-peptid) na početku bolesti. Iako je nedvosmisleno da je "honeymoon" remisija vremenski ograničena, dalji pad endokrine rezerve do nemerljivog C-peptida nije obligatan u svih. Postoje prediktivni faktori koji mogu nagovestiti povoljnu evoluciju bolesti, sa trajnim očuvanjem rezidualne beta ćelijske funkcije, odnosno sa mogućnošću bolje metaboličke kontrole - pre svih to je odsustvo dijabetesne ketoacidoze na prijemu. Stoga sve one koji u dijabetes uđu samo sa hiperglikemijskim sindromom, bez ketoacidoze, posebno ako su gojazni adolescenti valja pratiti i lečiti na poseban način, obzirom da postoji mogućnost instaliranja "duplog" ili "hibridnog" dijabetesa.

Dva su valjana objašnjenja postojanja "honeymoon" remisije, posebno ako je ona dugotrajna i izražena: oporavak beta ćelija nakon popravljavanja njihovog metaboličkog okruženja i popravljavanje insulinske senzitivnosti posle uklanjanja hronične hiperglikemije. Na taj način merenje C-peptida postaje odličan pokazatelj uspešnosti terapijskih intervencija (11). Kako suficijentni C-peptid garantuje mnogo lakšu i uspešnju glikoregulaciju, te izbegavanje dobro poznatih metaboličkih komplikacija, postoje pokušaji da se metodama tercijarne prevencije maksimalno prolongira faza remisije i tako predupredi eventualni nastanak komplikacija (12).

Još od Diabetes Control and Complication Trial - DCCT studije, postalo je jasno da je optimalna metabolička kontrola nužan preduslov očuvanja C-peptida. Stoga se inicijalna intenzivirana insulinska terapija analogima nameće kao neporecivi standard tercijarne prevencije.

Veliki je broj relativno neuspelih pokušaja u prošlosti da se indukuje i prolongira remisija u tipu 1 dijabetesa i na taj način smanje insulinske potrebe ili čak postigne insulinska nezavisnost, kao što su upotreba prednisolona, azatioprima, ciklosporina... Takođe testirana je efikasnost i brojnih monoklonskih antitela, najduže protiv T ćelijskog receptora (hOKT3 γ). Pokazano je da ovo anti CD3 monoklonsko antitelo, ukoliko se da u jednoj seansi unutar 6 nedelja od početka bolesti, može da prezervira C-peptid u trajanju od 2 godine. Još jedno slično monoklonsko anti CD3 antitelo označeno kao ChA-glyCD3 u evropskoj studiji pokazalo je slične rezultate (DEFEND-1 i Protégè studije). U okviru DEFEND-1 (Durable-response therapy Evaluation For Early or New-onset type 1 Diabetes) studije testirana je i efikasnost otelexizumaba, monoklonskog tela na epsilon lanac CD3 T limfocita sa visokim očekivanjima (13).

TrialNet studija je ispitivala dalje mogućnosti indukcije remisije u novodijagnostikovanih sa tipom 1 dijabetesa, upotrebom mycophenolate mofetil-a (MMF, na tržištu poznat kao CellSept) koji inhibira produkciju purina ključnog za propagaciju T ćelijskog ciklusa i

daclizumab-a (DZB, na tržištu poznat kao Zenapax) koji je anti CD25 (protiv interleukina-2) monoklonsko antitelo, ali sa obeshrabrujućim rezultatima.

Novi target u tercijarnoj prevenciji postaje i CTLA4 - poznati kostimulatorni molekul sa suprimirajućim efektom na T limfocitnu aktivnost - monoklonsko antitelo CTLA4-Ig (Abatacept) blokira kostimulaciju neophodnu za kompletnu T ćelijsku aktivaciju. Rezultati se očekuju.

Davanjem GAD-alum vakcine može se indukovati imuna toleranca i tako prevenirati dalji razvoj bolesti (14) - ukoliko se da unutar 6 meseci od početka terapije može pokazati odlične rezultate. Dobre rezultate u pilot studiji u smislu dugotrajnog očuvanja C-peptida pokazuje i davanje anti TNF- α leka etenercept-a (Embrel-a).

Najoptimističnija su najnovija istraživanja Dan Ploug Christensen-a u Kopenhagenu, koji je davanjem Lysine deacetylase inhibitors (KDACi) zaštitio β -ćelije od daljeg zapaljenja i oštećenja, uz odličnu toleranciju. Ovim se KDACi potencijalno kandiduje za imunomodulatorni molekul budućnosti (15).

ETABLIRANI TIP 1 DIJABETSA

Onda kada dođe do potpunog uništenja mase beta ćelija jedini način ostaje suspstitucija: insulinom, transplantacijom ili matičnim ćelijama.

LITERATURA

1. The Environmental Determinants of Diabetes in the Young. <https://teddy.epi.usf.edu/> 2014.

2. Knip M, Virtanen SM, Becker D, Dupré J, Krischer JP and Åkerblom HK for the TRIGR Study Group. Early feeding and risk of type 1 diabetes: experiences from the Trial to Reduce Insulin-dependent diabetes mellitus in the Genetically at Risk (TRIGR). Am J Clin Nutr 2011;94(6 Suppl):1814-20.

3. Horta BL and Victora CL. Evidence on the long-term effects of breast feeding: systematic reviews and meta analyses. WHO; 2007: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/79198/1/9789241505307>.

4. Hummel S, Pflüger M, Hummel M, Bonifacio E, Ziegler AG. Primary dietary intervention study to reduce the risk of islet autoimmunity in children at increased risk for type 1 diabetes: the BABYDIET study. Diabetes Care 2011;34(6):1301-5.

5. Munger KL, Levin LI, Massa J, Horst R, Orban T and Ascherio A. Preclinical Serum 25-Hydroxyvitamin D Levels and Risk of Type 1 Diabetes in a Cohort of US Military Personnel. American Journal of Epidemiology 2013;177(5):411-9.

6. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline (2011). <http://www.endocrine.org/~media/endosociety/Files/Publications/Clinical%20Practice%20Guidelines/FINAL-Standalone-Vitamin-D-Guideline.pdf>

7. Cooke A. Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: how might infection modulate the onset of type 1 diabetes? *Immunology* 2009;126(1):12-7.
8. F. Kreuser F, Kromeyer-Hauschild K, Gollhofer A, Korsten-Reck U and Röttger K. “Obese Equals Lazy?” Analysis of the Association between Weight Status and Physical Activity in Children. *J Obes.* 2013;2013:437017. Published online 2013 February 28. doi:10.1155/2013/437017.
9. Orban T, Sosenko JM, Cuthbertson F, Krischer JP, Skyler JS, Jackson R et al. Pancreatic Islet Autoantibodies as Predictors of Type 1 Diabetes in the Diabetes Prevention Trial–Type 1. *Diabetes Care* 2009;32(12):2269-74.
10. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes—2013. *Diabetes Care* 2013; 36(Suppl 1):11–66. Published online 2012 December 10. doi:10.2337/dc13-S011.
11. Sherr JL, Ghazi T, Wurtz A, Rink L, Herold KC. Characterization of residual β cell function in long-standing type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2014;30(2):154-62.
12. Steffes MW, Sibley S, Jackson M, Thomas W. Beta-cell function and the development of diabetes-related complications in the diabetes control and complications trial. *Diabetes Care* 2003;26(3):832-6.
13. Chatenoud L, Bluestone, JA. CD3-specific antibodies: a portal to the treatment of autoimmunity. *Nature Reviews Immunology* 2007;7(8):622–32.
14. Morales AE and Thraikill. GAD-alum immunotherapy in Type 1 diabetes mellitus. *Immunotherapy* 2011;3(3):323-32.
15. Christensena DP, Gysemansb C, Lundha M, Salling Dahllöfa M, NoesgaardD, Schmidtc SE et al. Lysine deacetylase inhibition prevents diabetes by chromatin-independent immunoregulation and β -cell protection. <http://www.pnas.org/content/early/2014//1320850111>.