

Temas de revisión

Instituto Nacional de Endocrinología

ANIMALES DE LABORATORIO EN LA ENDOCRINOLOGÍA: BIOMODELOS DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 1

Dra. Beatriz Hugues Hernandorena,¹ Lic. Julio César Rodríguez González² y Lic. Julio César Rodríguez García³

RESUMEN

En las investigaciones biomédicas se precisa la utilización de los animales de laboratorio como biomodelos naturales o inducidos de diversas enfermedades o procesos morbosos, los cuales ayudan al estudio y la comprensión de la patogenia, fisiología y posibilidades de tratamiento de las mismas. En la endocrinología se utilizan para estudiar estos aspectos de las enfermedades de origen autoinmune o no relacionadas con este sistema, como la diabetes mellitus, disfunciones tiroideas, trastornos de la reproducción y del metabolismo, entre otras, además de constituir un arma importante para investigar las interrelaciones hormonales que ocurren en los individuos normales o enfermos. Se realizó una amplia revisión bibliográfica sobre el tema para brindar una información detallada sobre los modelos animales de diabetes mellitus tipo 1 utilizados en las investigaciones biomédicas, que comprendiera los que se obtienen de forma espontánea e inducida, así como la influencia sobre ellos, de los factores ambientales. Se concluyó que resulta de vital importancia para el logro de las investigaciones básicas *in vivo* mantener un control estricto de las condiciones ambientales en las que desarrollamos nuestras investigaciones y ampliar nuestros conocimientos sobre el tema.

DeCS: ANIMALES DE LABORATORIO; DIABETES MELLITUS INSULINO-DEPENDIENTE; INVESTIGACION.

Para realizar cualquier tipo de investigación biomédica se hace preciso experimentar con animales.¹ Los modelos de animales son usados para buscar posibles soluciones a los padecimientos,

enfermedades y alteraciones presentes en los seres humanos.

En el campo de la endocrinología, los biomodelos experimentales son ampliamente utilizados para analizar la etiología,

¹ Médico Veterinario. Diplomado en Homeopatía Veterinaria.

² Licenciado en Bioquímica. Investigador Agregado.

³ Licenciado en Biología. Investigador Agregado.

patogénesis, fisiología y posibilidades terapéuticas de los trastornos endocrinos y aquellos íntimamente relacionados con el sistema nervioso e inmune (trastornos neuroinmunoendocrinos), entre los que se encuentran: la diabetes mellitus, las disfunciones tiroideas, las alteraciones del sistema hipotálamo-hipófisis, de la reproducción y del metabolismo en general.

Teniendo en cuenta la importancia de la experimentación animal en las ciencias biomédicas, nuestro objetivo en el presente trabajo es describir los modelos animales que se emplean en el estudio de las endocrinopatías, basado en nuestra experiencia y en una serie de revisiones bibliográficas actualizadas sobre el tema.

En esta primera parte nos referiremos a los biomodelos de la diabetes mellitus tipo I.

DIABETES MELLITUS

El término diabetes mellitus (DM), describe un trastorno metabólico de etiología múltiple, caracterizado por una hiperglucemia crónica con problemas de metabolización de los carbohidratos, las grasas y las proteínas que resultan de defectos en la secreción de insulina, en su acción o ambas.

Recientemente, se ha establecido una nueva clasificación y nuevos criterios de diagnóstico que tienen en cuenta los avances en el conocimiento de la diabetes.

Antes, se definían principalmente como diabetes tipo I o diabetes mellitus insulino dependiente (DMID) y diabetes tipo 2 o diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID), entre otras clasificaciones.

En la actualidad, los términos DMID y DMNID se reemplazan por DM tipo I

(DMT 1), DM tipo 2 (DMT2) y se consideran además como categorías: otros tipos específicos y diabetes gestacional.²

En la literatura científica consultada antes de establecerse la nueva estructura, se describen los biomodelos según los criterios anteriores lo cual habrá que tomar en cuenta en este artículo.

MODELOS ANIMALES DE DIABETES MELLITUS TIPO 1

La DMT1 incluye la mayoría de los casos debidos principalmente a la destrucción de las células β . Incluye 2 tipos: aquellos en los que hay evidencias de un proceso autoinmune y en otros donde la causa es idiopática. En este grupo se incluirán los modelos aceptados para el estudio de la DMID en los que hay problemas autoinmunológicos.

Los animales diabéticos han contribuido a entender las causas, consecuencias y tratamiento de este síndrome metabólico, aunque no representen exactamente los aspectos de la enfermedad en el ser humano.²

En los animales de laboratorio, la diabetes se puede presentar de forma espontánea o inducida experimentalmente por distintos métodos.³

BIOMODELOS ESPONTÁNEOS

Esta enfermedad ha sido estudiada en animales que desarrollan la diabetes insulino dependiente en los que intervienen 2 factores patogénéticos que se complementan: los defectos inmunológicos y la predisposición genética. Se presenta en varias especies de mamíferos como el hamster chino, curieles Hartley, conejos Nueva

Zelandia Blancos, perros Keeshond y monos, los cuales no son lo suficientemente convenientes o comparables con la DMID en seres humanos y están menos caracterizados. Los modelos más representativos son las ratas BB, LETL y los ratones NOD.⁴

Las ratas BB: fueron descubiertas en el laboratorio BioBreeding de Ottawa, Canadá. En otros laboratorios también se han obtenido otras líneas y sublíneas de ratas propensas a la diabetes (diabetes prone o DP o animales resistentes [BB-DR]).^{4,5}

En la tabla 1 se exponen las principales características de las distintas colonias BB diabéticas. Todas ellas son mantenidas en condiciones libres de patógenos específicos (SPF), excepto las BB/Wor que requieren estar libres de anticuerpos virales (VAF).

TABLA 1. Principales colonias y líneas de ratas BB diabéticas y sus características

Colonias	Incidencia de diabetes (%)	Edad de comienzo (días de nacido)
BB/W (Wistar)	<80	80-150
BB/WOR (Worcester)	60-90	60-120
BB/OK (OTTAWA/KARLSBURG)	50	60-120
BB/E	50-60	96+18
BB/MOL	96	56-130

Fuente: Bieg S, Lernmark A. Animals models for Insulin-Dependent Diabetes Mellitus.

En las ratas BB, los síntomas aparecen abruptamente alrededor de los 3 meses de edad. Las manifestaciones incluyen marcada hipoinsulinemia, hiperglucemia (20-30 mmol/L), glucosuria, pérdida de peso, polidipsia, poliuria y cetoacidosis. El análisis patológico de los islotes pancreáticos revela infiltración mononuclear celular y destrucción de las células β .⁵

Se han reportado tratamientos aplicados a las ratas BB que interfieren con la respuesta inmunológica y previenen la diabetes, los cuales incluyen: timectomía neonatal,⁶ irradiación linfoide total,⁷ tratamiento con suero antilinfocítico⁸ o ciclosporina.⁹ Todos estos experimentos han indicado que el sistema inmunológico está directamente vinculado en la patogenia de esta entidad en estos modelos y queda esclarecido que la inmunidad humoral y celular desempeñan un papel importante.

En todos los modelos, la insulinitis precede el comienzo clínico de la enfermedad.¹⁰ Este es un proceso gradual, que varía en los islotes de un mismo individuo y entre los diferentes modelos, ocurre una infiltración de los macrófagos, seguida de infiltración progresiva de células T CD4+ y CD8+, CD4-CD8-NK y linfocitos B.¹⁰ En las ratas BB no diabéticas la insulinitis consiste en una gran infiltración de macrófagos, en el tejido endocrino y el exocrino. Sobre la predisposición genética, en estudios realizados al cruzar distintas líneas BB entre sí con otras líneas consanguíneas se han identificado 3 genes. El primero (iddm1) es el Lyp (linfopenia) autosómico recesivo, localizado en el cromosoma 4 e induce a la ausencia de células T periféricas de las subpoblaciones CD8+ y RT6+ desde el nacimiento.¹¹ El fenotipo diabético en las ratas BB está acompañado por una deficiencia de las células T (linfopenia) y un fenómeno poliendocrinológico como la tiroiditis autoinmune.¹² El segundo gen es el iddm2, MHC (*major histocompatibility complex*) ubicado en el cromosoma 20, haploide e induce susceptibilidad a la insulinitis y a la diabetes. El tercero, iddm3 confiere resistencia a la diabetes.¹¹

La rata LETL (*Long-Evans Tokushima Lean*): manifiesta el cuadro diabético sobre

los 90 d de nacidos, pero a diferencia de las anteriores, no presenta linfopenia, por lo demás, manifiesta los mismos síntomas clínicos y subclínicos de las ratas BB y síntomas similares al ser humano. *Kawano* y otros la reportaron en 1989 como un modelo de la DMT1.¹³ Se plantea que en ellas la diabetes se segrega con al menos 2 genes recesivos. Al igual que los ratones NOD (*non obese diabetic*), estas ratas son capaces de desarrollar un síndrome parecido al de Sjögren, pero no tiroiditis.

Los ratones NOD: estos junto con las ratas BB han ayudado a esclarecer aspectos inmunogenéticos de la enfermedad, especialmente la función de los genes MHC, de citoquinas como las interleuquinas -1 (IL-1) y la identidad de las células que efectúan el ataque inmunológico.⁴ Proceden de una derivación de la sublínea Jc1-ICR que desarrolla cataratas y fue descubierta en 1974, en el Laboratorio de Investigaciones Shionogui, en Osaka.¹⁴

En ellos, la diabetes afecta casi al 10 % cuando se crían en condiciones SPF. En la tabla 2 se muestran las características de algunas colonias y líneas de ratones NOD obtenidas en diferentes laboratorios. Existen otras líneas derivadas de la NOD entre las que se encuentran los NOD/scid, NOD/nu/nu, NOR/Lt y NON/Lt.

Al igual que sucede en las ratas BB, en estos animales, los síntomas son muy parecidos al síndrome diabético tipo 1 del ser humano, pero en ellos aparece además infiltración de las glándulas salivales y lagrimales.¹⁵

La insulinitis comienza aproximadamente a las 6 sem de edad como una agregación linfocítica local cercana a los islotes (periinsulinitis) y progresa lentamente hacia una infiltración masiva de células mononucleares en el comienzo de la clínica. Sin embargo, no todos los animales afectados se convierten en diabéticos, hay numerosos reportes de ratones NOD con periinsulinitis con signos subclínicos. Solo cuando las células invasoras hayan destruido el 95 % de las células β productoras de insulina, es que se manifiesta la diabetes.¹⁶ La insulinitis a su vez puede ser prevenida mediante varios procedimientos inmunomoduladores¹⁷ que comprenden la timectomía neonatal, trasplantes de médula ósea, irradiaciones, transfusión de sangre, ciclosporina A, corticoides, nicotinamida y eliminación de radicales libres.

Genéticamente, el ratón NOD presenta un marcado fondo poligénico. En su genoma, existen más de 17 *locis* sobre al menos 5 cromosomas diferentes, lo que constituye el mayor factor genético el iddm-1 ubicado en el cromosoma 17.¹⁸

TABLA 2. Principales características de algunas colonias y líneas de ratones diabéticos

Colonias	Incidencia de diabetes (%)	Edad de comienzo (días de nacido)
NOD/Lt(<i>Leiter</i>)	90 en hembras 83 en machos	80-200
NOD/Shi (<i>Shionogui</i>)	70-80 en hembras >20 en machos	
NOD/Wehi (<i>Walter and Eliza Hall Institute</i>)	<10 en hembras <1 en machos	150

Fuente: Bieg S, Lernmark A. Animals models for Insulin-Dependent Diabetes Mellitus.

Influencia de los factores ambientales en animales diabéticos espontáneos

Aunque la mayoría de los modelos murinos espontáneos tienen una determinada predisposición genética, la incidencia de la diabetes también depende de condiciones externas.

En primer lugar, es necesario que se críen en condiciones SPF o VAF, como se describió en las ratas BB. Otros factores que pueden actuar sobre la respuesta inmunológica son: los agentes infecciosos, la dieta, las sustancias tóxicas, el estrés crónico y las hormona.⁴

Agentes infecciosos

Los virus y otros agentes patógenos pueden inducir o prevenir la diabetes. En individuos genéticamente susceptibles, ciertos virus la inducen al infectar y destruir las células β .¹⁹ En la tabla 3 se exponen

algunos tipos de virus y su actuación en distintas especies de animales y el hombre.

- **Bacterias y hongos:** Las ratas BB y ratones NOD que son vacunados con el *Bacillus Calmette Guérin* (BCG) o adyuvante completo de Freund (ACF) que contiene *Mycobacterium tuberculosis*, se protegen del desarrollo de la diabetes si el tratamiento es iniciado durante las dos primeras semanas de vida, a su vez, las enterotoxinas estafilocócicas también la previenen en ratones NOD.^{20,21}
- **La dieta:** Algunos componentes de las dietas estándares para roedores que contienen trigo, soya y alfalfa pueden desencadenar diabetes en las ratas BB y en los ratones NOD. Proteínas y péptidos constituyen factores desencadenantes. Por otra parte, dietas libres de estas sustancias y restringidas de ácidos grasos esenciales, como el ácido

TABLA 3. Algunos virus que inducen DMID en los animales y el hombre

Virus	Hospedero	Características
RNA		
Picornaviridae		
Coxsackie	Ratón Primates no humano Ser humano	Destrucción citolítica de las células β Desarrollo de DMID transitoria Aislado de páncreas de paciente DMID muestra ser diabetogénico en ratón
Encefalomiocarditis (EMC)	Ratón y Hamster	Destrucción citolítica de las células β
Meningovirus	Ratón	Destrucción citolítica de las células β
Fiebre aftosa	Ganado	
Retroviridae		
Retrovirus	Ratón	Desarrollan insulinitis y DMID en ratones NOD
Togaviridae		
Rubéola	Hamster y conejo Seres humanos Ganado	Posible asociación con DMID autoinmune Posible asociación con DMID autoinmune congénita Presunta respuesta autoinmune
Diarrea viral bovina		
Reoviridae		
Reovirus	Ratón	Posible asociación con autoinmunidad y diabetes
DNA		
Parvoviridae		
Virus Kilham de la rata	Rata	Desarrolla autoinmunidad específica celular que induce a DMID

Fuente: Boney A, Gulliam DJ. Animals models of IDDM. En: Pickup C, Williams G. Textbook of Diabetes.

araquidónico, previenen el desarrollo de la diabetes en estos animales.

Las proteínas de la leche de vaca han sido reconocidas como diabetogénicas en ratas BB jóvenes, y trabajos más recientes han contemplado a la albúmina del suero bovino (BSA) como agente inductor potencial de autoinmunidad contra las células β en seres humanos y ratas.²² Sin embargo, los estudios en los animales aún están inconclusos al respecto. En los ratones NOD no parece que la leche de vaca o la BSA tengan efecto sobre la incidencia de la diabetes, mientras que la inducción a la tolerancia a la BSA suministrada en períodos tempranos en la vida, previene la enfermedad en las ratas BB.^{23,24}

- *Sustancias tóxicas:* Algunas drogas causan toxicidad en las células β y pueden provocar la insulinitis y la diabetes. En ratas y ratones, la estreptozotocina (STZ), el alloxan y el vacor inducen diabetes en animales modelos al interferir con el metabolismo celular y como resultado se destruyen las células β . En modelos animales propensos a la diabetes, se puede amplificar la respuesta autoinmune de las células β y acelerar el comienzo de la enfermedad.⁵
- *El estrés crónico:* El estrés afecta el metabolismo de la glucosa de forma primaria por la actuación de varias hormonas contrarreguladoras que son liberadas en respuesta al mismo. Dichas hormonas elevan los niveles de glucosa en sangre y disminuyen la acción de la insulina. Se considera también que el estrés puede influir en ciertas respuestas inmunológicas que llegan a desencadenarlas.²⁵
- *Hormonas:* La incidencia de diabetes en los ratones NOD es mayor en las hembras

que en los machos, sin embargo, cuando los machos son castrados, el comienzo de la enfermedad se acelera. A su vez, cuando las hembras son tratadas con andrógenos, se inhibe el desarrollo de la misma, lo cual sugiere que los andrógenos tienen un efecto inmunosupresor.²⁶

BIOMODELOS INDUCIDOS

Diversos son los métodos que permiten inducir la DMT1, entre los cuales tenemos la manipulación genética, el empleo de agentes infecciosos o sustancias químicas y los procedimientos quirúrgicos.

Manipulación genética

Con el avance de las tecnologías sobre biología molecular y celular, genética y embriología nos enfrentamos con nuevas herramientas a los desafíos de la investigación. Las técnicas de manipulación genética han permitido obtener animales transgénicos y *knockout*, que constituyen el mejor sistema disponible para el estudio de las enfermedades humanas de origen genético.²⁷

Mediante la transgénesis se inserta material genético extraño dentro del genoma de un animal. Los genes exógenos se unen a promotores de un gen endógeno seleccionado, así la expresión del gen exógeno puede ser regulada. Los transgenes incluyen antígenos MHC, citoquinas como el interferón (IFN-), proteínas virales como la del LCMV (*Lymphocytic Choriomeningitis Virus*) que puede inducir insulinitis y diabetes en presencia de la infección por dicho virus. Ello permite desarrollar líneas de animales diabéticos o resistentes.²⁸

Los animales *knockout* se obtienen mediante técnicas para separar o reemplazar

genes,²⁷ por lo que se pueden crear biomodelos muy controlados genéticamente.

Agentes infecciosos

Como se menciona anteriormente, existen virus que pueden inducir este estado¹⁹ en distintos animales. El más estudiado es el de la encefalomiocarditis (EMC) en sus 2 variantes: el EMC-D que causa diabetes en aproximadamente el 90 % de los animales afectados al ejercer un efecto citotóxico y el EMC-B que es completamente no diabetogénico.

Sustancias químicas

Existen drogas o sustancias químicas ya referidas que son capaces de provocar la diabetes en individuos no diabéticos o estados de hiperglucemia en pacientes ya conocidos. Algunas de estas drogas pueden inducir a la resistencia insulínica o al daño de las células β y provocar la enfermedad. En los animales tienen un efecto similar y los biomodelos son empleados para estudiar la inducción de la diabetes y los efectos metabólicos.

Dentro de estas sustancias se encuentra la STZ que es un antibiótico de amplio espectro citotóxico. Puede ser empleada en ratas, ratones, perros, hamsters, ovejas y monos. Se administra de 2 formas: en dosis altas simples (50-60 mg/kg) por la vía intravenosa o intraperitoneal, que causan la muerte de las células β dentro de las 24 h, este probablemente, es el modelo más usado, o mediante dosis bajas subdiabetogénicas (5mg/kg) repetidas a los 5-6 d, que desarrolla un síndrome en el que aparece insulinitis, modelo que se utiliza para estudiar la vía por la cual se acrecientan los efectos de los agentes β citotóxicos. Otras sustancias son capaces de causar diabetes crónica como

el alloxan, clorotozin, vacor y la ciproheptadina que también son β destructoras, pero con un efecto menor que la STZ, aunque todas son tóxicas. El alloxan causa necrosis, pero no insulinitis, el vacor es un rodenticida capaz de provocar severa insulinodeficiencia en seres humanos. Agentes quelantes de Zn pueden inducir diabetes permanente en ratones y conejos. En ratones, la ingestión de nitrosamidas produce daño a las células β y finalmente, diabetes.^{4,5,29} Los glucocorticoides inducen a una diabetes insulino-resistente, que es posible provocar sobretodo, en los perros y ratas.³⁰⁻³² Hay sustancias activadoras de la inmunidad como el ácido poliiosínico, que pueden prevenir la diabetes en los ratones NOD, la acelera en las ratas BB-DP y la induce en las BB-DR, sin embargo, en las ratas Wistar no tienen efecto.^{32,33}

Procedimientos quirúrgicos

La mayor parte del trabajo inicial sobre la insulina y sus funciones fue realizado en animales pancreatectomizados y desempeñó un papel crucial en el descubrimiento de la insulina y los primeros ensayos terapéuticos. Este modelo crea una condición indistinguible de la diabetes en el ser humano y con él se estudian los efectos colaterales como lesiones hepáticas, renales y de la médula ósea.^{4,30}

Inmunoterapia en animales modelos de DMT1

Muchos aspectos inmunológicos de la DMT1 están representados en varios animales que pueden ser usados para estudios sobre la aplicación de la inmunoterapia en el hombre. En los ratones NOD y las ratas BB, los anticuerpos contra las moléculas MHC clase II, CD4 y CD8, así como el contra receptor de interleuquina 2(IL-2);^{34,35} la administración crónica de la

citoquina, como el factor de necrosis tumoral (TNF- α)³⁶ e IL-2³⁷ pueden prevenir la diabetes al igual que las sustancias inmunoestimulantes como el BCG y el ACF.^{38,39}

La tolerancia crónica a las células β puede ser inducida mediante inyección de antígenos de islotes dentro del timo o por la administración intranasal u oral en ratones jóvenes propensos a la diabetes. La aplicación de insulina profiláctica y de *GLUTAMIC ACID DECARBOXYLASE* (GAD) son blanco inmunológico en el estudio preclínico.⁴⁰

Utilización de los animales de laboratorio para el estudio de la DMT1 en el INEN

En el Instituto Nacional de Endocrinología se realizan investigaciones sobre la DMT1, desde hace más de 15 años, en modelos murinos, como los logrados por *Deas* y otros, que provocaron la inducción de la enfermedad en ratas Wistar con el empleo de STZ o dexametasona.^{31,41}

En conclusión, los modelos animales de diabetes mellitus tipo 1 han contribuido eficazmente a la comprensión de las causas,

consecuencias y tratamiento de éste síndrome metabólico en el ser humano. Estos modelos pueden ser espontáneos o inducidos mediante diferentes metodologías que incluyen la manipulación genética, el empleo de animales infecciosos o sustancias químicas y los procedimientos quirúrgicos.

Conociendo la importancia de los factores ambientales en el desarrollo de esta patología endocrina, resulta de gran importancia el control estricto de las condiciones ambientales en el desarrollo de estos biomodelos, así como durante la realización de las investigaciones en que son empleadas.

El conocimiento de la metodología, la fisiología y el control de estos modelos animales resulta un aspecto esencial a dominar por aquellos investigadores dedicados a las investigaciones básicas, lo que contribuirá a una mejor interpretación y comprensión de los resultados obtenidos y su correcta extrapolación a la patogenia de las patologías humanas objeto de estudio.

SUMMARY

In biomedical research, it is necessary the use of laboratory animals as natural or induced models of different diseases or morbid processes that make easy the study and understanding of the pathogeny, physiology and possibilities of treatment of them. In endocrinology, they are utilized to study the aspects of the diseases of autoimmune origin or of those not related to this system, such as diabetes mellitus, thyroid dysfunctions, reproduction and metabolism disorders, among others. Besides, they are also an important tool to investigate the hormonal interrelations occurring in normal or sick individuals. A wide bibliographic review on this topic was made to give a detailed information about the animal models of type I diabetes mellitus used in biomedical research, including those obtained in a spontaneous or induced way, as well as the influence of the environmental factors on them. It was concluded that it is very important for the achievement of the basic research *in vivo* to maintain a strict control of the environmental conditions under which we develop our investigations and to improve our knowledge on this topic.

Subject headings: ANIMALS, LABORATORY; DIABETES MELLITUS, INSULIN-DEPENDENT; RESEARCH.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Illera del Portal JC, Illera del Portal JM, Illera Marín M. La experimentación animal y el desarrollo de la investigación. *Rev Hispanoam Anim Exp* 2000;5(4):17-9.
2. Alberti KGMM. El diagnóstico y la clasificación de la diabetes mellitus. *Diabetes Voice* 1999;44(2):35-41.
3. Boney A, Gulliam DJ. Animals models of IDDM. En: Pickup C, Williams G. *Textbook of diabetes*. 2d ed. Blackwell Science, 1998:16.1-16.16.
4. Bieg S, Lernmark A. Animal models for insulin-dependent diabetes mellitus. En: Totowa, NJ. *Contemporary endocrinology autoimmune endocrinopathies*. Human Press 1999:113-39.
5. Petterson A, Jacob H, Lernmark A. Lessons from the animals models: the BB rat. En: Palmer JP, ed. *Diabetes prediction. Prevention and genetic counseling in IDDM*. New York: John Wiley, 1996:182-200.
6. Like AA, Kislauskis E, Williams RM, Rossini AA. Neonatal thymectomy prevents spontaneous diabetes mellitus in the BB/W rat. *Science* 1992;216:644-6.
7. Rossini AA, Slavin S, Woda BA, Geisberg M, Like AA, Mordes JP. Total lymphoid irradiation prevents diabetes mellitus in the Bio-Breeding/Worcester (BB/Wor) rat. *Diabetes* 1984;33:543-7.
8. Like AA, Rossini AA, Appel MC, Guberski DL, William RM. Spontaneous diabetes mellitus: reversal and prevention in the BB/W rat with antiserum to rat lymphocytes. *Science* 1979;206:1421-3.
9. Laupacis A, Gardell C, Durre J. Cyclosporin prevents diabetes in BB Wistar rats. *Lancet* 1983;1:10-1.
10. Bass J, Kurose T, Pashmforoush M, Steiner DF. Fusion of insulin receptor ectodomains to immunoglobulin constant domains reproduces high-affinity insulin binding in vitro. *J Biol Chem* 1996;271:19367-75.
11. Jacob H, Petterson A, Wilson D, Lernmark A, Lander ES. Genetic dissection of autoimmune type 1 diabetes in the BB rat. *Nature Gen* 1992;2:56-60.
12. Awata T, Guberski DL, Like AA. Genetics of the BB rat association of autoimmune disorders (diabetes, insulinitis y thyroids) with lymphopenia and major histocompatibility complex class II. *Endocrinology* 1995;136:5731-5.
13. Kawano K, Hirashima T, Mori S, Saith Y, Kurosumi M, Natori T. New inbred strain of Long-Evans Tokushima Lean rats with IDDM without lymphopenia. *Diabetes* 1991;40:1375-81.
14. Makino S, Kunimoto K, Muraoka Y, Mizushima Y, Katagiri K, Tochima Y. Breeding of non-obese diabetes strain of mice. *Exp Anim* 1980;29:1-13.
15. Berggren PO. New concepts in the pathogenesis of NIDDM. En: Toronto-Stockholm on perspective in diabetes research: advances of experimental medical biology. 2d. ed. New York: Plenum, 1993:24-45.
16. Bjork E, Kampe O, Karlsson FA, Pepeleers DG, Andersson A, Hellerstrom C. Glucose regulation of the antigen GAD 65 in human pancreatic islets. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:1574-6.
17. Tochino Y. The NOD mouse as a model of Type 1 Diabetes. *CRC Crit Rev Immunol* 1987;8:49-81.
18. Podolin PL, Denny P, Lord CJ, Hill J, Todd JA, Peterson LB. Congenic mapping of the insulin-dependent diabetes (Idd) gene, Idd10, localizes two genes mediating the Idd10 effect and eliminates the candidate Fcgr 1. *J Immunol* 1997;159:1835-43.
19. Yoon JW. Environmental factors in the pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. En: Pickup C, Williams G. *Textbook of Diabetes*. 2d ed. Oxford: Blackwell Science, 1998:14.1-14.14.
20. Bach JF. Insulin dependent diabetes mellitus as an auto-immune disease. *Endocrine Rev* 1994;15:515-42.
21. Kawamura T, Nagata M, Utsugi T, Yson Tw. Prevention of autoimmune type 1 diabetes by CD4+ suppressions T cells in superantigen treated non obese diabetic mice. *J Immunol* 1993;151:4362-70.
22. Lefkowitz J, Schreiner G, Cormier J, Handler ES, Driscoll HK, Greiner D, et al. Prevention of diabetes in the BB rat by essential fatty acid deficiency. Relationship between physiological and biochemical changes. *J Exp Med* 1990;171:729-43.
23. Paxson JA, Weber JG, Kulczyck A Jr. Cows and milk-free diet does not prevent diabetes in NOD mice. *Diabetes* 1997;46:1771-7.
24. Malkani S, Nempleggi D, Hansen JW, Greiner DL, Mordes JP, Rossini AA. Dietary cow's milk protein does not alter the frequency of diabetes in the BB rat. *Diabetes* 1997;46:1133-40.
25. Surwit RS, Schneider MS. Role of stress in the etiology and treatment of diabetes mellitus. *Psychosomat Med* 1993;55:380-93.
26. Homo-Delache F, Fitzpatrick F, Christeff N, Nuñez EA, Bach JF, Dardenne M. Sex steroids, glucocorticoids, stress and autoimmunity. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1991;40:619-37.
27. Capecchi MP. The new mouse genetics: altering the genoma by gene targeting. *Trends Gen* 1989;5:70.
28. Kats JD, Wang B, Haskins K, Bernout C, Mathis D. Following a diabetogenic T cell from genesis through pathogenesis. *Cell* 1993;74:1089-100.

29. Hsu Wh, Crump MH. Pancreas Endocrino. En: Endocrinología Veterinaria y Reproducción. 4ta ed. Atlampa; Interamericana, Mc Graw-Hill, 1991:179-94.
30. Transient diabetes mellitus associated with prednisone therapy in a dog. *J Am Vet Med Assoc* 1984;185(3):299-301.
31. Deas M, Crespo S, González R. Estudio del mecanismo de acción hipoglicémica de la Albahaca Morada (*Ocimum Sanctum*). IV. Efecto sobre la resistencia a la insulina inducida por dexametasona en modelos animales. *Rev Cubana Farm* 1988;22(1):101-8.
32. Ferner RE, Antsiferov ML, Kelman AW, Alberti KG, Rawlins MO. The relationship between dose and concentration of tolbutamide and insulin and glucose responses in the patients with non-insulin-dependent diabetes. *Eur J Clin Pharmacol* 1991;40:163-8.
33. Serreze DV, Prochzka M, Reifsnyder PC, Bridgett MM, Leiter EH. Use of recombinant congenic and congenic strains of NOD mice to identify a new insulin-dependent diabetes resistance gene. *J Exp Med* 1994;180:1553-8.
34. Boitard C, Michie S, Serruener P, Butcher GW, Larkins AP, Mc Devitt HO. In vitro prevention of thyroid and pancreatic autoimmunity in the BB rat by antibody to class II major histocompatibility complex gene products. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:6627-31.
35. Boitard C, Bendelac A, Richard MF, Carnaud C, Bach JF. Prevention of diabetes in non obese diabetic mice by anti I A monoclonal antibodies transfer of protection by splenic T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;85:9719-23.
36. Satoh J, Seino H, Shintani S, Tanaka S-I, Ohteko T, Masuda T, et al. Inhibition of type 1 diabetes in BB rats with recombinant human tumor necrosis factor. *J Immunol* 1990;144:1395-9.
37. Zielasek J, Burkart V, Naylor P, Goldstein A, Kiesel U, Kolb H. Interleukin -2- dependent control of disease development in spontaneously diabetic BB rats. *Immunology* 1990;69:209-14.
38. Qin HY, Singh B. BCG vaccination prevents insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) in NOD mice after disease acceleration with cyclophosphamide. *J Autoimm* 1997;10:271-8.
39. Qin HY, Sadelain MW, Hitchon C, Lauzon J, Singh B. Complete Freund's adjuvant-induced T cells prevent the development and adoptive transfer of diabetes in non obese diabetic mice. *J Immunol* 1993;150:2092-80.
40. Tisch R, Yang XD, Singer SM, Leblan RS, Fugger L, Mc Devitt HO. Immune response to glutamic acid decarboxylase correlate with insulinitis in non obese diabetic mice. *Nature* 1993;366:72-5.
41. Deas M, Menéndez R, Álvarez A, González R. Efecto hipoglicémico de la Albahaca Morada. *Rev Cubana Inv Biom* 1988;7(1):53-9.

Recibido: 2 de julio del 2001. Aprobado: 24 de septiembre del 2001.

Dra. *Beatriz Hugues Hernandorena*. Instituto Nacional de Endocrinología, Zapata y D, El Vedado, Ciudad de La Habana, Cuba.