
POSIBLE IMPLICACIÓN DEL GEN *RNASEH1* EN LA ETIOLOGÍA DE DIABETES MELLITUS TIPO 1*

Astrid Jannet Rodríguez¹
Javier Gutiérrez¹
Vital Balthazar¹
Federico Uribe²
Gabriel Bedoya³
Juan Manuel Alfaro¹
Nicolás Pineda-Trujillo¹

RESUMEN

Las enfermedades complejas se caracterizan porque presentan varios genes además de factores ambientales implicados en su etiología. Las bases genéticas de la diabetes mellitus tipo 1 (T1D) supone un efecto mayor del complejo HLA que interactúa con otros genes y con el ambiente. Mucho se ha descrito acerca de la posible participación de las infecciones virales como desencadenadores de T1D. En esta revisión exploramos los posibles mecanismos por los cuales el gen *RNASEH1* podría estar participando en la etiología de T1D, a partir de una infección viral.

El gen *RNASEH1* se localiza en la región cromosómica 2p25, la cual ha sido recientemente implicada por nosotros en la susceptibilidad a T1D. Este gen ha sido implicado en la enfermedad mediante análisis genético. Acá pretendemos dar sentido biológico a los datos genéticos. Considerando que la enfermedad es multifactorial, este planteamiento no excluye la participación de otros genes u otros factores ambientales.

Palabras clave: diabetes tipo 1, susceptibilidad genética, gen *RNASEH1*, factores ambientales.

POSSIBLE IMPLICATION OF THE *RNASEH1* GENE IN THE ETIOLOGY OF TYPE 1 DIABETES MELLITUS

ABSTRACT

Complex disorders are characterized by presenting many genes and other environmental factors implicated in their etiology. The genetic bases of type 1 diabetes mellitus (T1D) suppose a major effect of the HLA complex which interacts with other genes and the environment. Much has been written about the possible implication of viral infections as triggers of T1D. This review explores the mechanisms by which the *RNASEH1* gene could be involved in the etiology of T1D, due to a viral infection. The *RNASEH1* gene is located in chromosome 2p25, which has been recently implicated in the susceptibility to T1D by the authors, through genetic analysis.

* Este trabajo fue realizado gracias a la financiación de Colciencias y la Universidad de Antioquia. Proyectos: "Evaluación de genes conocidos y desconocidos en una región cromosómica segregando con Diabetes Mellitus tipo Código: 111534319156; "Evaluación autoinmune y asociación del gen TPO en cien tríos familiares Antioqueños con Diabetes Mellitus tipo 1" Código: 8704-2449.

¹ Grupo Mapeo Genético. Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Medellín (Colombia). Autor de correspondencia: Nicolás Pineda-Trujillo. M.Sc, Ph.D. E-mail: nicolas.pineda@medicina.udea.edu.co

² Endocrinología y Metabolismo, Departamento de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Medellín (Colombia).

³ Grupo Genética Molecular -GENMOL- Corporación de Patologías Tropicales, Instituto de Biología, Universidad de Antioquia. Medellín (Colombia).

This text hopes to establish a biological context for the genetic data. Taking into account that this is a multifactorial disease, this approach does not exclude the eventual participation of other genes or environmental factors.

Key words: type 1 diabetes, genetic susceptibility, *RNASEH1* gene, environmental factors.

POSIBLE IMPLICACIÓN DEL GEN *RNASEH1* EN LA ETIOLOGÍA DE DIABETES MELLITUS TIPO 1

La diabetes mellitus tipo 1 (T1D) es un desorden heterogéneo con etiología multifactorial. Para su susceptibilidad intervienen tanto factores ambientales como genéticos. Además es importante la interacción que pueda presentarse entre cada uno de estos factores de susceptibilidad. La participación de los genes se ha documentado ampliamente como poligénica (1, 2). Dentro de estos, la región HLA ha sido descrita como el mayor factor genético de riesgo/protección a la enfermedad (3, 4). No obstante, existen otros genes fuera de HLA que también aportan riesgo/protección para la enfermedad. Recientemente, en Antioquia, hemos identificado un nuevo locus genético asociado con la susceptibilidad a T1D, el cual se localiza en la región cromosómica 2p25 (5, 6). En este locus se encuentran aproximadamente veinte genes, entre los que se destacan funcionalmente *TPO* y *RNASEH1*, como posiblemente relacionados con la susceptibilidad a T1D. En este artículo describiremos los posibles mecanismos por los cuales *RNASEH1* estaría implicado en la etiología de T1D. Actualmente está en proceso el análisis genético tendiente a verificar la presumible asociación de este gen con la etiología de la enfermedad.

RNASEH1

El gen *RNASEH1* humano denominado ribonucleasa H1, fue reportado y mapeado inicialmente en la región cromosómica 17p11.2, a través de ensayos de hibridización *in situ*

(Fluorescent *in situ* hybridization, FISH) en 1998 (7). Sin embargo, la secuencia reportada para este locus, al ser traducida a una secuencia aminoacídica, resulta en una proteína no funcional, además de no coincidir con la secuencia del cDNA (DNA copia) identificada y clonada para el mismo gen por otros investigadores (8). De esta forma en 2002, Anneloor et al., dilucidaron la verdadera posición del gen en la región 2p25, concluyendo además que los genes reportados y mapeados en el cromosoma 17, y otro en el cromosoma 1, por ellos mismos, corresponden a pseudogenes de la proteína ribonucleasa H1 (9).

El gen *RNASEH1* posee una secuencia nucleotídica de aproximadamente 10 kbp estructurada en 8 exones, que codifica para una proteína de 286 ó 260 residuos, resultantes de posibles eventos de "splicing" alternativo. La predicción proteica muestra que posee un motivo RNAasa H en el C terminal y otro conservado en el N terminal que en otras RNAsas eucarióticas ha sido implicado con la unión de dsRNA (RNA de doble cadena) e híbridos de RNA-DNA. La proteína ribonucleasa H1 presenta una expresión ubicua y constante en tejidos de ratón (9).

ACTIVIDAD FISIOLÓGICA

Las RNAsas en general, son nucleasas que catalizan la hidrólisis de RNA en componentes más pequeños y se pueden dividir en endorribonucleasas y exorribonucleasas. La función más importante, reportada hasta el momento de la RNAasa H, es remover los iniciadores de RNA de los fragmentos de Okazaki durante la síntesis de la cadena

rezagada en la duplicación del DNA (10), a través del reconocimiento del híbrido RNA-DNA (11). También podría estar participando en procesos importantes durante el crecimiento celular ya que la delección de dicho gen en organismos unicelulares disminuye la tasa de crecimiento sin efectos letales (12). Por otro lado, ratones “knockout” mueren durante la embriogénesis debido a que poseen una falla en la replicación del DNA mitocondrial (13). Otros reportes indican que está involucrada en el procesamiento de bucles (loops) R para la modulación de la iniciación de la replicación y la restauración de la topología del DNA (14) en diferentes organismos incluyendo *Escherichia coli* (15). Varias de estas actividades pueden realizarse en ausencia completa de las ribonucleasas H en humanos, siendo reemplazadas por las subunidades catalíticas de la polimerasa I o por otras proteínas. Es así como se sugiere un papel alternativo en el que sí es indispensable, pero que aún no se conoce (16).

En los virus, el dominio RNAsa H que se encuentra en la transcriptasa reversa (RT) puede introducir espacios o “gaps” cerca del extremo 5' de la hebra molde de RNA después de que ha sido copiada al híbrido RNA-DNA. Esto crea nuevos cebadores o “primers” con grupos 3' hidroxilo libres para la DNA polimerasa viral. En la medida en que la DNA polimerasa viral copia el molde de DNA, puede en una reacción simultánea remover cualquier RNA

viral remanente a través de su actividad RNAsa, dando como resultado un DNA de doble cadena (17). Así, cualquier mutación en dicho dominio inhibe completamente la RT (18). De ahí la motivación en el estudio de esta proteína en virus, especialmente en VIH (virus de inmunodeficiencia humana), ya que representa un blanco muy atractivo para el desarrollo de nuevas drogas antivirales (19).

El dominio RNAsa H de muchas de las RT víricas, puede unirse no sólo a híbridos DNA-RNA sino también a dímeros RNA-RNA (20). Esta unión permite también la degradación de una de las hebras de RNA (20, 21), presuntamente por el mismo mecanismo utilizado después del reconocimiento de heterodímeros de ácidos nucleicos (11).

Se presume que el mecanismo por el cual la RNAsa H reconoce el dsRNA es a través de la interacción de una de las hebras con aminoácidos positivamente cargados presentes en una de las regiones estructurales de la proteína denominado “Protrucción Básica”. Sin embargo, un estudio realizado en 1995 (22), demostró que en *Saccharomyces cerevisiae*, son las repeticiones R1 y R2 (Figura 1) de la proteína, las que se unen específicamente a dsRNA, en vez del dominio RNAsa H. Todos los estudios anteriores coinciden en la modulación de dicha actividad por las concentraciones de los iones Mg^{+2} y Mn^{+2} .

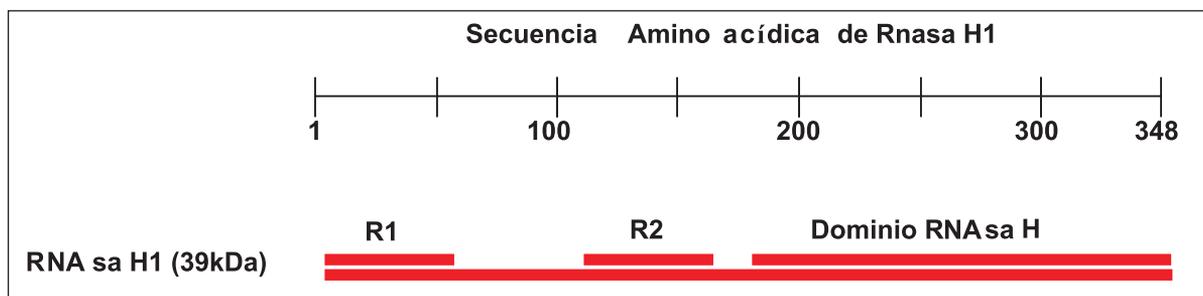


Figura 1. Organización estructural de la proteína RNAsa H1. La proteína posee dos repeticiones R1 y R2 localizados en la región N-terminal y posiblemente involucrados en la unión de dsRNA, y el dominio RNAsa H ubicado desde la mitad del extremo C-terminal. [Modificado (22)].

A partir de la actividad catalítica de las RNAsas H1 hasta el momento estudiadas en otros organismos, pueden extrapolarse posibles papeles de la misma proteína en humanos, llevando a proponer vías hipotéticas que podrían desencadenar el desarrollo de ciertas enfermedades, como la diabetes tipo 1 (T1D).

DIABETES TIPO 1 E INFECCIONES VIRALES

La T1D es una enfermedad causada por la destrucción autoinmune selectiva de las células β productoras de insulina en los islotes pancreáticos de Langerhans (23). Sin embargo, el mecanismo que lleva a la manifestación de la autoinmunidad clínica es aún desconocido. T1D es un desorden poligénico con una concordancia entre gemelos monocigotos $\leq 50\%$ (24). Tales niveles de concordancia permiten sugerir que otros factores tales como epigenéticos o medioambientales pueden estar implicados (25). Así, la manifestación de la T1D puede ser la consecuencia de una compleja interacción entre factores ambientales y genéticos.

Los virus son los primeros candidatos en considerarse un factor de riesgo medioambiental ya que inducen una fuerte respuesta inmune y pueden infectar el páncreas y las células β llevando a una inflamación local (2). El aumento en la incidencia en el inicio de T1D aguda durante las estaciones, con un pico en el otoño reportado hace aproximadamente 80 años (26) coincide con la afirmación de que enfermedades con incidencias estacionarias son generalmente causadas por infecciones virales. También hay algunos datos de infecciones virales que preceden o coinciden con el inicio de T1D, al igual que reportes de virus aislados de tejido pancreático de pacientes con diabetes aguda y de inducción de diabetes en animales susceptibles por infecciones con tales aislados (27).

Hasta la fecha, varios virus humanos han sido asociados con diabetes tipo 1 humana. Estos

incluyen coxsackie B virus (28, 29), virus de la rubéola (30, 31), virus de la parotiditis (32), citomegalovirus (33, 34), Epstein-Bar (35) y Varicela Zoster (36). En animales, incluyendo ratones, ratas, hamsters, ovejas, cerdos y primates no humanos, se han asociado nueve virus con el desarrollo de diabetes tipo 1.

En ratones se han asociado con el desarrollo de T1D los virus de la Encefalomiocarditis (EMC) (37, 38), los mengovirus (39), los reovirus (40) y algunos retrovirus; Coxsackie B virus, particularmente B4, en ratones (41-43) y primates no humanos (44); virus de la rubéola en hamsters y conejos (30, 45); virus de enfermedad mucoso-diarreica viral bovina en cabras (46), y KRV (Virus Kilham de la rata) en ratas (47, 48).

VIRUS Y RNAsas

Como se mencionó anteriormente, numerosos virus han sido asociados con el desarrollo de T1D, sin embargo el virus humano más estudiado a este respecto ha sido el virus Coxsackie B (29). El virus Coxsackie B es un virus perteneciente a la familia de los Picornaviridae del género *Enterovirus*. Poseen un genoma RNA de cadena sencilla de aproximadamente 7,4 kb que actúa directamente como un mRNA en células infectadas (42).

Se han detectado miembros de la familia CV (Coxsackie virus) en tejido pancreático, incluyendo células β , de pacientes con T1D (diabetes tipo 1) (49). CV infecta células β *in vitro*, llevando frecuentemente a su destrucción y disfunción (50). Para defenderse de los dramáticos efectos de CV, las células β pancreáticas secretan IFN en los estadios tempranos de la infección, y sólo de esta manera pueden sobrevivir (51). Diferentes tipos de IFN pueden activar las células NK ("natural killers"), macrófagos y células T (52). Por otro lado, los IFNs actúan en una forma auto, para y endocrina, potenciando la transición de células no infectadas a un estado antiviral, y a uno apoptótico en células ya

infectadas con el fin de reducir la permisividad de las células a la infección (53). Este objetivo es comúnmente llevado a cabo por la expresión de proteínas que exhiben actividades intracelulares antivirales. Por ejemplo, la RNasa L degrada RNA hospedero y viral. Esta endonucleasa es activada por 2,5-oligoadelinato (2,5A), que es a su vez sintetizado por una familia de enzimas denominadas 2-5A sintetasas (2,5AS) (54). Las 2,5AS son activadas sólo en presencia de intermediarios de dsRNA virales. De esta

manera cuando es activada esta vía los ácidos nucleicos del virus comienzan a ser degradados por la RNasa L (55).

Estudios sobre la importancia de las RNAsas durante infecciones de CV concluyen que el IFN previene la replicación de CVB4 en los islotes del páncreas, pero falla cuando los islotes carecen de RNAsas, así un daño o una inadecuada expresión de RNAsas podría contribuir al desencadenamiento de T1D (Figura 2) (56).

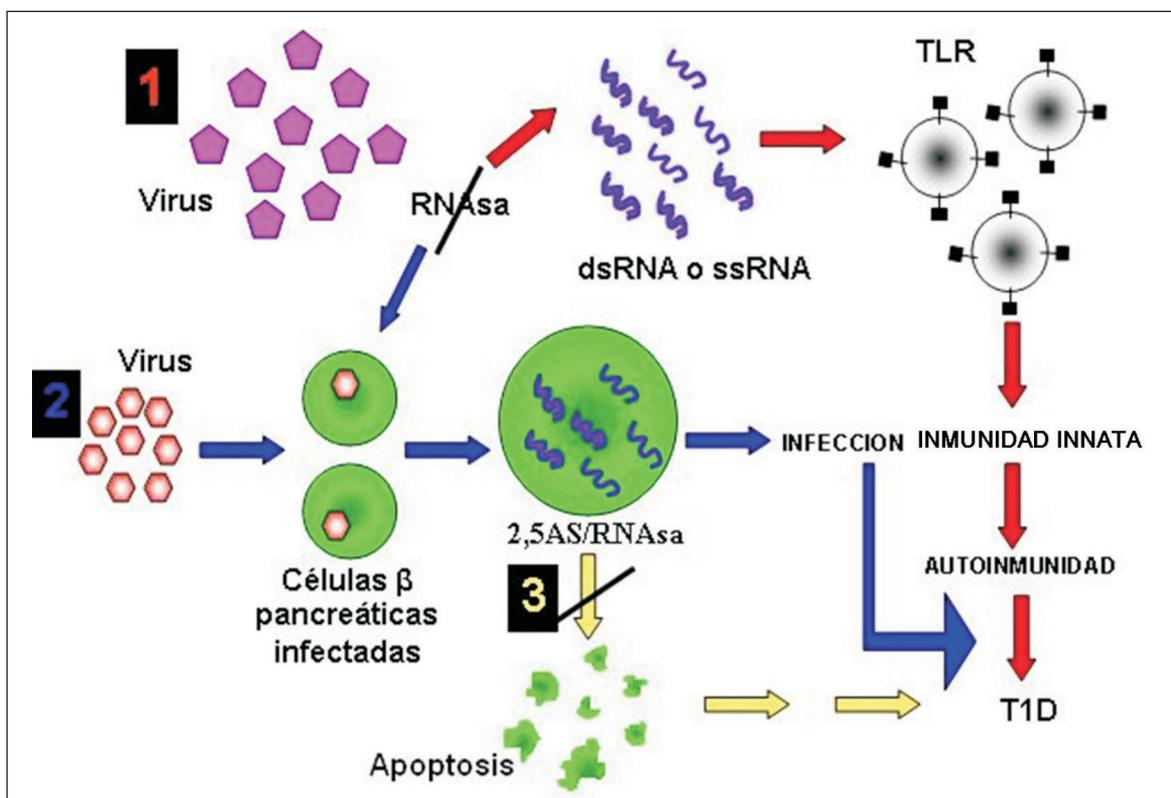


Figura 2. Posibles vías de participación de la RNasa H1 en la etiología de la diabetes mellitus tipo 1. 1) Al presentarse una disfuncionalidad en las RNAsas, pueden no degradarse los ácidos nucleicos procedentes de infecciones víricas que pueden activar, a una concentración elevada, receptores tipo Toll y desencadenar una respuesta autoinmune no controlada que desencadenaría la enfermedad. 2) Durante una eventual infección con el virus Coxsackie o cualquier otro virus, y una disfuncionalidad en las RNAsas, el estado antiviral de la célula no podría ser activado, y la infección se propagaría con mayor facilidad, llevando al daño agresivo de las células β [por la vía del mecanismo “bystander” (58)]. 3) La infección con el virus Coxsackie y otros virus implicados en el desarrollo de T1D, combinada con un daño completo en una vía similar a la vía 2,5AS/RNasa en la que presuntamente estaría participando la proteína RNasa H1, promovería una acumulación de ácidos nucleicos (dsRNA, ssRNA o dímeros RNA-DNA) que activarían una cascada de señalización apoptótica. Los cuerpos apoptóticos generados, iniciarían una respuesta inflamatoria no controlada, al presentar antígenos propios de las células beta a las células T, desatando así una respuesta autoinmune [Mimetismo molecular (58)]. [Modificado de (2, 54, 58)].

RNAsa H1 Y DIABETES MELLITUS TIPO 1

Como se dijo anteriormente, RNAsa H1 se une a híbridos RNA-DNA, y por la homología que presenta con dominios RNAsa H de proteínas víricas, podría eventualmente unirse a motivos dsRNA. Tales motivos nucleotídicos se presentan en la célula durante la infección por virus RNA, entre los que se cuentan virus coxsackie, encefalomiocarditis, mengovirus, retrovirus, rubéola, etc. Todos ellos, presuntamente involucrados en el desarrollo de T1D (57).

Durante el ciclo de replicación de los virus RNA, la maquinaria de replicación debe generar hebras de RNA positivas que constituyen los mRNA virales. Durante este proceso se forman ssRNA (RNA de cadena sencilla) los cuales forman estructuras terciarias para protegerse de la acción de enzimas exonucleasas. Sin embargo, esos motivos nucleotídicos pensados como ssRNA podrían ser reconocidos de esta forma como dsRNA en los tallos inmediatos a los bucles formados dentro de la estructura del RNA, por la RNAsa H1.

Durante el ciclo de los virus también se encuentra una etapa de integración en la que es necesario que se formen híbridos RNA-DNA. Estos últimos se unen con mayor afinidad a la proteína en cuestión como lo indican muchos de los estudios realizados hasta el momento. Así, tenemos dos presuntos substratos de la RNAsa H1, que podrían estar iniciando una respuesta autoinmune descontrolada al estar ella participando en una vía similar a la del sistema 2,5A/RNAsa L, aún no conocida en la respuesta antiviral. Bajo condiciones normales se podría presumir que durante una infección

viral, la respuesta antiviral dentro de la célula huésped se activa y con ella la RNAsa H1. Esta proteína detectaría motivos nucleotídicos ssRNA o híbridos RNA-DNA que se encuentran en la célula en concentraciones anómalas, degradándolos e inhibiendo la replicación del virus y su posterior encapsulación. Este es un mecanismo utilizado por la célula para impedir la infección de células vecinas, que posteriormente terminará en un proceso de apoptosis (59). Sin embargo, cuando la RNAsa H1 no es activa, por diferentes eventos mutacionales, los ssRNA y los híbridos RNA-DNA no se degradarían con la misma eficiencia con la que lo harían en presencia de una RNAsa H1 normal, así los niveles de estos motivos nucleotídicos aumentan y son detectados por receptores TLR 3, 4 y 5 que activarían la respuesta inmune llevando a un proceso de inflamación, y posteriormente desarrollando una fuerte respuesta autoinmune que terminaría destruyendo las células del tejido infectado. Por otro lado, el progreso de la misma infección y la destrucción de las células por estar frente a una respuesta antiviral débil, haría que el tejido se destruyera, generando los mismos efectos que se presentaron durante la respuesta autoinmune, pero esta vez por la infección misma.

La experiencia nos habla de genes insospechados con grandes efectos en varias enfermedades complejas (56) y podríamos estar frente a uno de ellos. No podemos olvidarnos de las intrincadas redes génicas implicadas en todos los procesos fisiológicos y todos los factores tanto genéticos como ambientales que pueden estar influenciando la expresión de un rasgo y que podrían pasar desapercibidas por no ser lo suficientemente obvias.

REFERENCIAS

1. Kyvik KO, Green A, Beck-Nielsen H. Concordance rates of insulin dependent diabetes mellitus: a population based study of young Danish twins. *BMJ (Clinical research ed.)* 1995;311(7010):913-7.
2. Kim MS, Polychronakos C. Immunogenetics of type 1 diabetes. *Hormone research* 2005;64(4):180-8.
3. Nerup J, Platz P, Andersen OO, Christy M, Lyngsoe J, Poulsen JE, et al. HL-A antigens and diabetes mellitus. *Lancet* 1974;2(7885):864-6.
4. Cudworth AG, Woodrow JC. Evidence for HL-A-linked genes in "juvenile" diabetes mellitus. *British medical journal* 1975;3(5976):133-5.
5. Uribe F, Pineda-Trujillo N, Montoya F, Latorre G, Villegas A, Cerón J, et al. Análisis de ligamiento genético de la diabetes mellitus tipo 1 a marcadores de los cromosomas 2 y 11 en familias antioqueñas. *IATREIA* 2004;17(2):93-104.
6. Pineda-Trujillo N, Uribe F, Montoya F, J-M A, Latorre G, Villegas A, et al. 2p25 is linked and associated to Type 1 Diabetes in Colombia. *Clin Genetics* submitted; 2009.
7. Cerritelli SM, Crouch RJ. Cloning, expression, and mapping of ribonucleases H of human and mouse related to bacterial RNase HI. *Genomics* 1998;53(3):300-7.
8. Istrail S, Sutton GG, Florea L, Halpern AL, Mobarry CM, Lippert R, et al. Whole-genome shotgun assembly and comparison of human genome assemblies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2004;101(7):1916-21.
9. ten Asbroek AL, van Groenigen M, Jakobs ME, Koevoets C, Janssen B, Baas F. Ribonuclease H1 maps to chromosome 2 and has at least three pseudogene loci in the human genome. *Genomics* 2002;79(6):818-23.
10. Lyamichev V, Brow MA, Dahlberg JE. Structure-specific endonucleolytic cleavage of nucleic acids by eubacterial DNA polymerases. *Science (New York, NY)* 1993;260(5109):778-83.
11. Nowotny M, Gaidamakov SA, Ghirlando R, Cerritelli SM, Crouch RJ, Yang W. Structure of human RNase H1 complexed with an RNA/DNA hybrid: insight into HIV reverse transcription. *Molecular cell* 2007;28(2):264-76.
12. Itaya M, Omori A, Kanaya S, Crouch RJ, Tanaka T, Kondo K. Isolation of RNase H genes that are essential for growth of *Bacillus subtilis* 168. *Journal of bacteriology* 1999;181(7):2118-23.
13. Cerritelli SM, Frolova EG, Feng C, Grinberg A, Love PE, Crouch RJ. Failure to produce mitochondrial DNA results in embryonic lethality in RNaseh1 null mice. *Molecular cell* 2003;11(3):807-15.
14. Broccoli S, Rallu F, Sanscartier P, Cerritelli SM, Crouch RJ, Drolet M. Effects of RNA polymerase modifications on transcription-induced negative supercoiling and associated R-loop formation. *Molecular microbiology* 2004;52(6):1769-79.
15. Katayanagi K, Miyagawa M, Matsushima M, Ishikawa M, Kanaya S, Ikehara M, et al. Three-dimensional structure of ribonuclease H from *E. coli*. *Nature* 1990;347(6290):306-9.
16. Tsunaka Y, Haruki M, Morikawa M, Kanaya S. Strong nucleic acid binding to the *Escherichia coli* RNase HI mutant with two arginine residues at the active site. *Biochimica et biophysica acta* 2001;1547(1):135-42.
17. Keller W, Crouch R. Degradation of DNA RNA hybrids by ribonuclease H and DNA polymerases of cellular and viral origin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1972;69(11):3360-4.

18. Repaske R, Hartley JW, Kavlick MF, O'Neill RR, Austin JB. Inhibition of RNase H activity and viral replication by single mutations in the 3' region of Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase. *Journal of virology* 1989;63(3):1460-4.
19. Klumpp K, Mirzadegan T. Recent progress in the design of small molecule inhibitors of HIV RNase H. *Current pharmaceutical design* 2006;12(15):1909-22.
20. Blain SW, Goff SP. Nuclease activities of Moloney murine leukemia virus reverse transcriptase. Mutants with altered substrate specificities. *The Journal of biological chemistry* 1993;268(31):23585-92.
21. Ben-Artzi H, Zeelon E, Gorecki M, Panet A. Double-stranded RNA-dependent RNase activity associated with human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1992;89(3):927-31.
22. Cerritelli SM, Crouch RJ. The non-RNase H domain of *Saccharomyces cerevisiae* RNase H1 binds double-stranded RNA: magnesium modulates the switch between double-stranded RNA binding and RNase H activity. *RNA (New York, NY)* 1995;1(3):246-59.
23. Pearl-Yafe M, Kaminitz A, Yolcu ES, Yaniv I, Stein J, Askenasy N. Pancreatic islets under attack: cellular and molecular effectors. *Current pharmaceutical design* 2007;13(7):749-60.
24. Kantarova D, Buc M. Genetic susceptibility to type 1 diabetes mellitus in humans. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca* 2007;56(3):255-66.
25. Peng H, Hagopian W. Environmental factors in the development of Type 1 diabetes. *Reviews in endocrine & metabolic disorders* 2006;7(3):149-62.
26. Sf A. the seasonal variation in the onset of acute diabetes. *Arch intern med* 1926;27:861-2.
27. Kurtz F, Juif JG, Hauptmann GR. Virologic, immunologic, and genetic factors in insulin-dependent diabetes mellitus. *The Journal of pediatrics* 1983;102(5):800.
28. Green J, Casabonne D, Newton R. Coxsackie B virus serology and Type 1 diabetes mellitus: a systematic review of published case-control studies. *Diabet Med* 2004;21(6):507-14.
29. Drescher KM, Tracy SM. The CVB and etiology of type 1 diabetes. *Current topics in microbiology and immunology* 2008;323:259-74.
30. Menser MA, Forrest JM, Bransby RD. Rubella infection and diabetes mellitus. *Lancet* 1978;1(8055):57-60.
31. Numazaki K, Goldman H, Wong I, Wainberg MA. Infection of cultured human fetal pancreatic islet cells by rubella virus. *American journal of clinical pathology* 1989;91(4):446-51.
32. Ilonen J, Salonen R, Salmi A, Mustonen A. Low levels of mumps virus antigen induced interferon-alpha production in insulin-dependent diabetes. *Diabetes research (Edinburgh, Scotland)* 1989;12(2):75-8.
33. Aarnisalo J, Veijola R, Vainionpaa R, Simell O, Knip M, Ilonen J. Cytomegalovirus infection in early infancy: risk of induction and progression of autoimmunity associated with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2008;51(5):769-72.
34. van der Werf N, Hillebrands JL, Klatter FA, Bos I, Bruggeman CA, Rozing J. Cytomegalovirus infection modulates cellular immunity in an experimental model for autoimmune diabetes. *Clinical & developmental immunology* 2003;10(2-4):153-60.
35. Chikazawa K, Okusa H, Minakami H, Kimura K, Araki S, Tamada T. [Acute onset of insulin-dependent diabetes mellitus caused by Epstein-Barr virus infection]. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai zasshi* 1985;37(3):453-6.

36. Jali MV, Shankar PS. Transient diabetes following chicken pox. *The Journal of the Association of Physicians of India* 1990;38(9):663-4.
37. Choi KS, Jun HS, Kim HN, Park HJ, Eom YW, Noh HL, et al. Role of Hck in the pathogenesis of encephalomyocarditis virus-induced diabetes in mice. *Journal of virology* 2001;75(4):1949-57.
38. Yama S, Nishioka W, Hirokami Y, Setoguchi R, Takeyama N, Saeki K, et al. Effects of tacrolimus (FK506) on encephalomyocarditis virus-induced diabetes in mice. *Microbiology and immunology* 2004;48(1):7-13.
39. Jun HS, Yoon JW. A new look at viruses in type 1 diabetes. *Diabetes/metabolism research and reviews* 2003;19(1):8-31.
40. Campbell IL, Harrison LC, Ashcroft RG, Jack I. Reovirus infection enhances expression of class I MHC proteins on human beta-cell and rat RINm5F cell. *Diabetes* 1988;37(3):362-5.
41. Onodera T, Jenson AB, Yoon JW, Notkins AL. Virus-induced diabetes mellitus: reovirus infection of pancreatic beta cells in mice. *Science (New York, NY)* 1978;201(4355):529-31.
42. Yoon JW, Onodera T, Notkins AL. Virus-induced diabetes mellitus. XV. Beta cell damage and insulin-dependent hyperglycemia in mice infected with coxsackie virus B4. *The Journal of experimental medicine* 1978;148(4):1068-80.
43. Hou J, Sheikh S, Martin DL, Chatterjee NK. Coxsackievirus B4 alters pancreatic glutamate decarboxylase expression in mice soon after infection. *Journal of autoimmunity* 1993;6(5):529-42.
44. Yoon JW, London WT, Curfman BL, Brown RL, Notkins AL. Coxsackie virus B4 produces transient diabetes in nonhuman primates. *Diabetes* 1986;35(6):712-6.
45. Rayfield EJ, Kelly KJ, Yoon JW. Rubella virus-induced diabetes in the hamster. *Diabetes* 1986;35(11):1278-81.
46. Tajima M, Yazawa T, Hagiwara K, Kurosawa T, Takahashi K. Diabetes mellitus in cattle infected with bovine viral diarrhoea mucosal disease virus. *Zentralblatt für Veterinärmedizin* 1992;39(8):616-20.
47. Blankenhorn EP, Rodemich L, Martin-Fernández C, Leif J, Greiner DL, Mordes JP. The rat diabetes susceptibility locus *Iddm4* and at least one additional gene are required for autoimmune diabetes induced by viral infection. *Diabetes* 2005;54(4):1233-7.
48. Zipris D, Lien E, Xie JX, Greiner DL, Mordes JP, Rossini AA. TLR activation synergizes with Kilham rat virus infection to induce diabetes in BBDR rats. *J Immunol* 2005;174(1):131-42.
49. Jenson AB, Rosenberg HS, Notkins AL. Pancreatic islet-cell damage in children with fatal viral infections. *Lancet* 1980;2(8190):354-8.
50. Ylipaasto P, Klingel K, Lindberg AM, Otonkoski T, Kandolf R, Hovi T, et al. Enterovirus infection in human pancreatic islet cells, islet tropism in vivo and receptor involvement in cultured islet beta cells. *Diabetologia* 2004;47(2):225-39.
51. Chehadeh W, Weill J, Vantighem MC, Alm G, Lefebvre J, Wattré P, et al. Increased level of interferon-alpha in blood of patients with insulin-dependent diabetes mellitus: relationship with coxsackievirus B infection. *The Journal of infectious diseases* 2000;181(6):1929-39.
52. Bogdan C. The function of type I interferons in antimicrobial immunity. *Current opinion in immunology* 2000;12(4):419-24.
53. Barber GN. Host defense, viruses and apoptosis. *Cell death and differentiation* 2001;8(2):113-26.

Astrid Jannet Rodríguez, Javier Gutiérrez, Juan Manuel Alfaro, Nicolás Pineda-Trujillo, Vital Balthazar, Federico Uribe, Gabriel Bedoya

54. Player MR, Kalinichenko EN, Podkopaeva TL, Mikhailopulo IA, Seela F, Torrence PF. Dissection of the roles of adenine ring nitrogen (N-1) and exocyclic amino (N-6) moieties in the interaction of 2-5A with RNase L. *Biochemical and biophysical research communications* 1998;245(2):430-4.
55. Silverman RH. A scientific journey through the 2-5A/RNase L system. *Cytokine & growth factor reviews* 2007;18(5-6):381-8.
56. Flodstrom-Tullberg M, Hultcrantz M, Stotland A, Maday A, Tsai D, Fine C, et al. RNase L and double-stranded RNA-dependent protein kinase exert complementary roles in islet cell defense during coxsackievirus infection. *J Immunol* 2005;174(3):1171-7.
57. Jun HS, Yoon JW. The role of viruses in type I diabetes: two distinct cellular and molecular pathogenic mechanisms of virus-induced diabetes in animals. *Diabetologia* 2001;44(3):271-85.
58. Filippi C, von Herrath M. How viral infections affect the autoimmune process leading to type 1 diabetes. *Cellular immunology* 2005;233(2):125-32.
59. Player MR, Torrence PF. The 2-5A system: modulation of viral and cellular processes through acceleration of RNA degradation. *Pharmacology & therapeutics* 1998;78(2):55-113.