

Trasplante de células madre como terapia en diabetes *mellitus* tipo 1

Stem cell transplantation as therapy in diabetes *mellitus* type 1

Carolina Henao Ochoa¹, Juan David Lasprilla Tovar¹, Andrés Felipe Escobar González², Carolina Jaramillo Arango³

¹ *Endocrinología Pediátrica. Universidad de Antioquia. Medellín, Antioquia (Colombia)*

² *Hematología Pediátrica. Hospital Pablo Tobón Uribe. Medellín, Antioquia (Colombia)*

³ *Endocrinología Pediátrica. Hospital Pablo Tobón Uribe. Medellín, Antioquia (Colombia)*

Resumen

La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) es una enfermedad caracterizada por la destrucción de las células beta productoras de insulina, la cual es inmune-mente mediada y se debe, en gran parte, a un defecto innato en el sistema inmune que culmina en la pérdida de la auto-tolerancia, la destrucción de las células β y el desenlace clínico final de hiperglucemia y DM1. El tratamiento intensivo con insulina puede llevar a un estricto control metabólico, reduciendo la incidencia y progresión de las complicaciones a largo plazo, sin embargo, mantener un adecuado control metabólico con niveles de glucemia normales suele ser difícil y se asocia a una mayor frecuencia de episodios hipoglucémicos. Las intervenciones terapéuticas destinadas a preservar la masa de células β en el momento de la aparición de la diabetes, hasta el momento, han demostrado una eficacia transitoria y limitada. Actualmente, hay estudios que muestran resultados prometedores en escenarios experimentales y clínicos apoyando el uso de células madre para el tratamiento de la diabetes autoinmune. A continuación se hace una revisión acerca de estas nuevas terapias y los resultados obtenidos.

Correspondencia:

Carolina Henao Ochoa, Endocrinología Pediátrica
Universidad de Antioquia,
Medellín, Antioquia, Colombia
E-mail: carolinahenaochoa@gmail.com
E-mail: caritoho5@hotmail.com

Palabras clave: Trasplante de células madre, diabetes mellitus tipo 1, células secretoras de insulina, células madre hematopoyéticas, trasplante autólogo, trasplante homólogo

Abstract

Type 1 diabetes mellitus (DM1) is a disease characterized by the destruction of insulin-producing beta cells, which is immune-mediated and largely due to an innate defect in the immune system. It leads to the loss of auto-tolerance, destruction of beta cells and DM1 as a final clinical outcome. Intensive insulin therapy can lead to strict metabolic control, reducing the incidence and progression of complications in the long term. However, maintaining adequate metabolic control with normal blood glucose levels often proves to be difficult and can increase the frequency of hypoglycemic episodes. Therapeutic interventions, aimed to preserve beta cell mass at the time of onset of diabetes, have demonstrated transient and limited efficacy. Current studies have shown promising results, in both experimental and clinical settings, supporting the use of stem cells for the treatment of autoimmune diabetes. The following article focuses on these new therapies and their results.

Key words: Stem cell transplantation, type 1 diabetes mellitus, insulin-secreting cells, hematopoietic stem cells, autologous transplantation, homologous transplant.

La diabetes es una enfermedad crónica compleja. Requiere atención médica continua con estrategias multifactoriales de reducción del riesgo, que van más allá del control glucémico. La diabetes tipo 1 (DM1) es una enfermedad heterogénea cuya presentación clínica y progresión puede variar. Previamente se denominó como "diabetes insulino dependiente" o "diabetes juvenil", actualmente es la principal causa de diabetes en los niños y adolescentes y representa un 5 a 10% de todos los tipos de diabetes en la población general^{1,2}.

La DM1 se caracteriza por la destrucción crónica de las células beta pancreáticas, dando lugar a una deficiencia parcial o, en la mayoría de los casos, absoluta de insulina. Casi todos los casos resultan de la destrucción de las células beta pancreáticas mediada de manera inmune por las células T, destrucción que ocurre a una tasa variable y se vuelve clínicamente sintomática cuando casi el 90% de estas células beta son destruidas. La etiología es multifactorial y los roles específicos para la susceptibilidad genética y sistema inmune, los factores ambientales y las células beta en sí, en los procesos patogénicos subyacentes a la DM1, aún están poco claros. Sin embargo, este proceso sí se relaciona, en gran parte, con un defecto innato en el sistema inmune, culminando en una pérdida de la auto-tolerancia y la destrucción de la célula beta productora de insulina^{1,3}.

Los autoanticuerpos asociados, que son marcadores serológicos de la autoinmunidad a las células beta, incluyen GAD (Anti glutamato descarboxilasa), IA2 (Anti tirosin fosfatasa 2), IAA (Anti insulina) y ZnT8 (Anti transportador de zinc 8)⁴. La expresión de estos anticuerpos es dependiente de la edad, siendo IAA y ZnT8 más comúnmente expresados en niños menores de 10 años, mientras que GAD y IA-2 se asocian con edad avanzada y GAD con el sexo femenino^{1,2,5}.

La susceptibilidad a la DM1 está determinada por múltiples genes con más de 60 loci de riesgo identificados por todo el genoma⁶. El genotipo del antígeno leucocitario humano (HLA) confiere aproximadamente un 50% del riesgo⁷. En la población caucásica, las combinaciones específicas de los alelos HLA DR y DQ determinan la susceptibilidad genética⁸. Los haplotipos de mayor riesgo son DRB1* (También expresado como DR3/DR4 o DQ2/DQ8). Los haplotipos que confieren protección contra la DM1 son DRB1*01: 01-QA1*01:02-DQB1*06:02, DRB1*14: 01-DQA1*01:01-DQB1*05:03 y DRB1*07:01-DQA1*02:01-DQB1*03:03^{1,8}. Para los individuos que son heterocigotos para los dos haplotipos HLA de mayor riesgo (DR3/4), el odds ratio es de 30 para el desarrollo de la autoinmunidad a los islotes y la DM1; sin embargo, menos del 10% de los que tienen genes HLA de susceptibilidad a la DM1, desarrollan la enfermedad clínica¹.

Los desencadenantes ambientales (infecciosos y/o químicos) que inician la destrucción de las células β pancreáticas siguen siendo desconocidos, aunque ya hay teorías e hipótesis acerca de algunos agentes causales. El proceso puede comenzar días, meses o incluso años antes de las manifestaciones y síntomas clínicos⁹. La infección por enterovirus se ha asociado con el desarrollo de la autoinmunidad a los islotes y la DM1 en muchas poblaciones^{10,11} y los enterovirus se han detectado en los islotes de los individuos con DM^{11,12}.

Estos pacientes con DM1 también son propensos a otros trastornos autoinmunes como la tiroiditis de Hashimoto, la enfermedad celíaca, la enfermedad de Graves, la enfermedad de Addison, el vitíligo, la hepatitis autoinmune, la miastenia gravis y la anemia perniciosa².

Insulinoterapia en DM1

La terapia con insulina es actualmente el pilar del tratamiento en niños y adolescentes con DM1 y son esenciales para la supervivencia, junto con los hábitos de vida saludable, una correcta alimentación y la realización de actividad física, entre otros¹³.

La insulinoterapia debe parecerse lo más posible a la secreción de insulina fisiológica normal según la edad, el peso y el estadio del desarrollo del paciente; sin embargo, a pesar de los numerosos avances, aún no se ha logrado imitar adecuadamente la regulación precisa de la homeostasis de la glucosa en las células beta. Actualmente, hay diversos regímenes a partir de una variedad de productos como plumas desechables y recargables, viales y bombas de insulina disponibles para el manejo de la DM1 que logran un parcial control metabólico y una importante pero incompleta disminución de las complicaciones a corto, mediano y largo plazo^{1,2,13,14}.

A pesar de haber logrado grandes avances en la insulinoterapia en las últimas décadas gracias al desarrollo de nuevas tecnologías, aún no se ha logrado un control total de la enfermedad y sus complicaciones, debido a muchos motivos, tales como los inherentes a cada paciente, la falta de adherencia al tratamiento, las múltiples inyecciones y/o punciones diarias, las graves comorbilidades, las difíciles situaciones sociales y el complicado acceso al sistema de salud, entre otros. Es por ello que la investigación, el estudio y la búsqueda de nuevas terapias y opciones de tratamiento que puedan lograr un mejor control metabólico y de las complicaciones, han continuado y persisten de manera incansable en el tiempo y, por qué no, algún día se llegará a encontrar la cura definitiva para esta enfermedad³.

Otros tratamientos en DM1

Trasplante de páncreas

Actualmente no hay cura definitiva para la DM1. El trasplante de páncreas, aunque bastante exitoso, es un procedimiento invasivo que se limita a pacientes con complicaciones avanzadas, requiere inmunosupresión constante, y está estrictamente limitado por la disponibilidad de donantes. Los progresos recientes en los protocolos de aislamiento de células de islotes humanos e inmunosupresores ha restaurado la normoglucemia en pacientes que recibieron células de los islotes del páncreas de dos o tres donantes. Sin embargo, debido a la escasez de los páncreas de cadáver y el bajo rendimiento de células de los islotes obtenidos por el procedimiento, no todos los pacientes tienen acceso a este recurso quirúrgico^{3,15}.

En un estudio publicado en el 2017 por *Choi JY et al*¹⁶, los autores compararon la tasa de supervivencia en pacientes adultos con DM complicada en lista de espera para trasplante de páncreas como monoterapia vs el trasplante simultáneo de páncreas y riñones, el trasplante de páncreas luego del trasplante renal y los pacientes que fueron trasplantados. Los autores encontraron que el trasplante simultáneo de páncreas y riñones ofreció beneficios de supervivencia, a pesar de las complicaciones quirúrgicas e inmunológicas, especialmente en pacientes con mayor compromiso renal; que el trasplante solo de páncreas y el trasplante de páncreas luego del trasplante renal también serían buenas opciones de tratamiento, ya que la tasa de supervivencia no fue despreciable. Sin embargo, también concluyen que se debe tener mayor precaución para la selección de candidatos al trasplante de páncreas como monoterapia, siempre y cuando su función renal esté preservada; además, que los riesgos, los beneficios, la mortalidad perioperatoria y la morbilidad asociada a este tipo de trasplante deben ser considerados cuidadosamente¹⁶.

En otro estudio publicado por *Sung Shin et al*¹⁷ evaluaron la función renal de 87 adultos con DM1, antes y después del trasplante de páncreas como monoterapia. Encontraron un considerable deterioro de la función renal en los pacientes después del trasplante vs los no trasplantados.

Debido a todo esto, se necesitan otros enfoques terapéuticos para detener la agresión autoinmune, conservar la masa de células β y proveer un reemplazo eficiente. En este sentido, la médula ósea y el trasplante de sangre del cordón umbilical son posibilidades prometedoras que merecen ser exploradas³.

Preservación de células beta con agentes inmunosupresores

La preservación de las células beta con agentes inmunosupresores también ha sido intentada, tratando de detener la agresión inmune hacia el páncreas endocrino, facilitando la reconstrucción natural de las células y manteniendo la capacidad funcional residual de las mismas. Muchos ensayos clínicos han evaluado el papel de la inmuno-intervención para prevenir la pérdida de células beta residuales. Cursos cortos (menos de 12 meses) de prednisona, azatioprina, azatioprina más prednisona, y ciclosporina en ensayos aleatorizados y controlados han producido diversos grados de mejoría en los niveles de péptido C al final del seguimiento, comparado con los valores previos al tratamiento. Estos efectos persisten incluso después de la suspensión de la inmunosupresión, pero los efectos secundarios y tóxicos de los fármacos, al igual que los riesgos de la inmunosupresión y la necesidad de su uso a largo plazo, han limitado su uso rutinario en población joven³.

Células madre

Las células madre poseen la capacidad única de producir células hijas indiferenciadas o generar tipos de células especializadas, cuando se les dan señales apropiadas. Pueden clasificarse como células madre embrionarias o como células madre del tejido. Las células madre embrionarias son células pluripotentes indiferenciadas de la masa celular interna de un blastocisto, usualmente cosechadas cuatro a cinco días después de la fecundación¹⁸. Se aislaron por primera vez en seres humanos en 1998. Estas células expresan altos niveles de actividad telomerasa y pueden diferenciarse en las tres capas germinales embrionarias: ectodermo, mesodermo y endodermo¹⁹. Las células madre de los tejidos, la segunda variedad, son células más terminalmente diferenciadas. Las propiedades de las células madre sugieren su uso potencial en condiciones patológicas que involucran daño tisular. Aunque no existen tratamientos actualmente aprobados que incorporen células madre embrionarias, las células madre tisulares sí se usan en trasplantes de médula ósea para el tratamiento de neoplasias sanguíneas, enfermedades autoinmunes, entre muchas otras^{18,20}.

Las células madre hematopoyéticas (HSC - *Hematopoietic Stem Cells*) son las células madre que dan lugar a todas las otras células de la sangre a través del proceso de hematopoyesis. Se derivan del mesodermo y se encuentran en la médula ósea en el núcleo de la mayoría de los huesos. Las HSCs dan lugar a los linajes mieloides y linfoides de las células sanguíneas (las células mieloides incluyen mo-

nocitos, macrófagos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, eritrocitos, células dendríticas y megacariocitos o plaquetas; las células linfoides incluyen células T, células B y *natural killers*)²¹.

Las células madre ofrecen una serie de ventajas teóricas sobre las terapias actuales: no están limitadas por la disponibilidad de los donantes, podrían proporcionar una fuente a largo plazo de células beta y, por último, podrían minimizar la necesidad de inmunosupresión^{18,20}.

Trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas (HSCT – Hematopoietic Stem Cell Transplantation)

El trasplante autólogo de HSC consiste en trasplantar células madre provenientes del propio paciente, reduce al mínimo los problemas de rechazo más allá de las características autoinmunes inherentes de la DM1²². Todos estos factores convierten a la médula ósea en una fuente atractiva para la posible terapia de la DM1 con células madre¹⁸.

Desde 1996, muchas enfermedades autoinmunes han sido tratadas exitosamente con altas dosis de inmunosupresores seguidos de trasplante autólogo y mieloablativo de células madre hematopoyéticas^{23,24}. En muchos casos, la función de los órganos se salva e incluso mejora después del trasplante. De igual manera, se realizó un esquema linfoablativo que destruye la mayoría de los linfocitos autorreactivos y no autorreactivos del paciente, seguido de una recuperación del sistema inmune, en un pequeño número de pacientes con DM1 y buenos resultados, con una toxicidad aceptable²⁵. En este estudio, a 15 pacientes con DM1 (seis semanas del diagnóstico y con edad promedio de 19,2 años) se les realizó una movilización autóloga de células madre con ciclofosfamida y factor estimulante de colonias de granulocitos, seguido de leucoféresis y crioconservación de células madre. Después del acondicionamiento, las células previamente movilizadas se reinfundieron por vía intravenosa. Catorce de los 15 sujetos pudieron interrumpir las inyecciones de insulina durante, al menos, un mes después del tratamiento, y la mayoría (80%) pudieron permanecer sin insulina durante más de seis meses. La toxicidad relacionada con el tratamiento fue muy baja y no hubo muertes. Las limitaciones de este estudio incluyen el corto tiempo de seguimiento y la falta de datos de péptido C para confirmar un efecto del tratamiento en lugar de un período prolongado de luna de miel resultante de los cambios en la dieta y el ejercicio. Estos resultados se ampliaron por *Couri et al*²⁶ en 15 de los pacientes previamente descritos y ocho adicionales, los cuales fueron seguidos por un período de 7 a 58 meses después del tratamiento. Veinte de los 23 pacientes no necesita-

ron usar insulina exógena (12 de manera permanente y ocho de manera transitoria) por un período de cuatro años, asociado a un buen control glucémico y una tasa de efectos adversos aceptable²⁶.

El mecanismo de acción exacto del HSCT autólogo en trastornos autoinmunes no está completamente entendido. Es posible que haya un cambio en el equilibrio entre la inmunidad destructiva y la tolerancia a través de mecanismos aún no definidos, como el agotamiento clonal, las células supresoras, la indiferencia inmune, las alteraciones de citoquinas, los cambios en la clonalidad de las células T o B o los cambios en los autoantígenos inmunodominantes²⁴. De hecho el HSCT autólogo no mieloablativo fue capaz de inducir aumentos prolongados y significativos en los niveles de péptido C asociados con la ausencia o reducción de las dosis diarias de insulina en un pequeño grupo de pacientes con DM1 recién diagnosticada. Sin embargo, los ensayos controlados aleatorios y otros estudios biológicos son necesarios para confirmar el papel de este tratamiento en el cambio de la historia natural de la DM1³.

HSCT alogénico y de células madre mesenquimatosas

El trasplante alogénico es aquel en el cual un donante, genéticamente no idéntico al receptor, proporciona el injerto medular²⁷. El HSCT alogénico podría eliminar las células inmunocompetentes anormales responsables del desarrollo de la DM1. Se ha propuesto que la inducción del quimerismo, después del HSCT alogénico, podría eliminar las células T autorreactivas maduras en los tejidos linfoides periféricos del huésped, a través de un efecto injerto contra autoinmunidad mediada por células T del donante en el injerto y, también, eliminar las células T autorreactivas que se desarrollan de novo, a través de la selección negativa mediada por células presentadoras de antígeno del donante en el timo del huésped^{3,28}.

Las células madre mesenquimatosas son células madre adultas multipotentes presentes en la médula ósea, el tejido adiposo y la sangre del cordón umbilical. Se sabe que estas células evitan problemas de compatibilidad inmune debido a que tienen una expresión baja del HLA-I y no HLA-II, así como un bajo riesgo de rechazo alogénico y enfermedad de injerto contra huésped^{29,30}. Estas células mesenquimatosas tienen propiedades inmunomoduladoras y proangiogénicas significativas que las convierten en candidatos ideales para terapias de combinación. La infusión in vivo de células mesenquimatosas que se diferencian a células β ha dado resultados contradictorios, tanto prometedores como decepcionantes^{31,32}. Las células mesenquimatosas,

bajo condiciones de diferenciación, pueden ser inducidas para diferenciarse en células productoras de insulina³⁰.

En algunos estudios se ha reportado que la diabetes en ratas BB se pudo transferir, tanto a ratas BB jóvenes como a ratas resistentes a diabetes, cuando se introdujeron en estas ratas células de bazo activadas con concavalina A de ratas BB con diabetes evidente. Por el contrario, se ha demostrado que el HSCT alogénico de ratas normales a ratas BB previene la diabetes³. Estas observaciones sugieren que las células inmunocompetentes anormales son responsables del desarrollo de DM1 y que el HSCT alogénico, que reemplaza estas células madre anormales con células madre de médula ósea normal, tiene efectos profilácticos y curativos en ratas BB. El HSCT alogénico podría usarse para tratar la insulinitis autoinmune y prevenir la diabetes evidente en ratones NOD (*nonobese diabetic*); pero, el HSCT alogénico, por sí solo, no podría curar la diabetes establecida. Esto se debe a que las células β de los islotes ya están destruidas en el momento en que la enfermedad se establece^{3,33}.

Un estudio murino inicial de *Ianus et al*³⁴ sugirió que las células madre de médula ósea injertada podrían diferenciarse en células β pancreáticas funcionales in vivo. Se inyectaron células madre de médula ósea marcadas para la proteína fluorescente verde (GFP) en ratones. Al final de un estudio de seis semanas, los investigadores encontraron células fluorescentes verdes productoras de proteína (GFP +) dentro de los islotes pancreáticos del ratón receptor. Se demostró entonces que estas células expresaban insulina, GLUT2, factores de transcripción asociados con las células beta, y respondían al estímulo de la glucosa secretando insulina. Además, estas células ya no expresaban un marcador de células no beta que se encontró en las células madre circulantes de médula ósea. Estas células madre de médula ósea se diferenciaron eficazmente en células beta pancreáticas. Debe tenerse en cuenta que los niveles de injerto para estas células eran bastante bajos (1,7-3%) en comparación con las células de los islotes de ratones control (80-85%)^{18,34}.

Desafortunadamente, estos resultados no se replicaron en estudios posteriores. *Choi et al*³⁵ realizaron un estudio similar. En el mismo, primero, los ratones fueron irradiados e inyectados con células fluorescentes verdes que producían células madre de médula ósea, luego les inyectaron estreptozotocina. Al final del estudio, se encontraron células fluorescentes verdes productoras de proteínas en los islotes pancreáticos, pero no produjeron insulina, glucagón o Pdx-1. Sin embargo, observaron aumentos de las células positivas a la bromodeoxiuridina que secretan insulina dentro de los islotes. Además, cin-

co semanas después de la administración de estreptozotocina, la tolerancia a la glucosa en los ratones había vuelto a niveles casi normales. Los investigadores concluyeron que, mientras que las células madre de médula ósea no parecieron diferenciarse automáticamente en células β pancreáticas, todavía tenían el potencial de diferenciarse en células beta del huésped en la terapia de reemplazo de células beta^{18,35}.

*Hasegawa et al*³⁶ examinaron la relación entre el trasplante de células madre de médula ósea y la estimulación de la producción endógena de insulina en mayor profundidad. Primero, demostraron que la lesión pancreática aguda era necesaria para mejorar la hiperglucemia y restaurar el número y tamaño de los islotes. Esto fue coherente con los resultados de *Hess et al*³⁷ quienes también indicaron que el injerto de células madre de médula ósea reparaba preferentemente el tejido pancreático dañado. En segundo lugar, los investigadores demostraron que, aunque no se detectaron células productoras de insulina derivadas de células madre de médula ósea, los páncreas con islotes regenerados fueron rodeados por células hematopoyéticas derivadas de células madre de médula ósea. Además, la mayoría de los islotes positivos para bromodeoxiuridina se encontraron en las proximidades de estas células hematopoyéticas, lo que sugiere que estaban implicadas en la proliferación y diferenciación de las células progenitoras pancreáticas. Finalmente, también concluyeron que la movilización de células progenitoras endoteliales y hematopoyéticas derivadas de células madre de médula ósea era crítica para la regeneración de células beta^{18,36}.

*Mathews et al*³⁸ profundizaron aún más en la conexión entre las células progenitoras endoteliales derivadas de células madre de médula ósea (EPC) y la regeneración de células beta en respuesta a la lesión pancreática. Se sabe que las células progenitoras endoteliales están implicadas en la neovascularización, que constituye un componente importante de la regeneración de los tejidos y la cicatrización de las heridas. Tras el tratamiento con estreptozotocina, la irradiación y el trasplante de células madre de médula ósea con producción de proteínas fluorescentes verdes, los investigadores encontraron un aumento tanto en células endoteliales derivadas de células madre de médula ósea como endógenas. También, con el tiempo, mostraron un aumento en el número total de vasos sanguíneos en el animal trasplantado. Los investigadores concluyeron que las células progenitoras endoteliales derivadas de células madre de médula ósea son reclutadas al páncreas como una respuesta adaptativa a la lesión de células beta^{18,38}.

Un estudio realizado por *Urban et al*³⁹ sugiere que las cualidades inmunosupresoras de las células

madre de la médula ósea pueden contribuir a la regeneración de las células beta. Los investigadores inyectaron, en ratones irradiados inducidos por estreptozotocina, una mezcla de células de médula ósea y células madre mesenquimatosas derivadas de médula ósea. Al igual que en otros estudios, fueron capaces de normalizar exitosamente los niveles de glucosa en plasma. Por otra parte, mostraron que las células madre mesenquimatosas suprimieron, significativamente, la proliferación de células T específicas de células β en el páncreas. Por lo tanto, el aumento de la regeneración de células β puede atribuirse, en parte, a las cualidades protectoras de las células madre mesenquimatosas, a la protección de las células β recién formadas de la destrucción por los linfocitos T y a la reparación de la fisiopatología autoinmune inherente asociada con la DM1. Estos estudios *in vivo* detallan el potencial de las células madre de médula ósea para estimular la regeneración de las células beta en el tejido pancreático dañado. Sin embargo, los estudios *in vitro* también ofrecen opciones prometedoras para la terapia de DM1. *Tang et al*⁴⁰ realizaron un cultivo de células madre de médula ósea, en condiciones de glucosa alta y expuestas a los factores de estimulación de las células beta; con el tiempo, estas células se diferenciaron en células productoras de insulina. Estas células productoras de insulina fueron capaces de expresar múltiples genes de las células beta pancreáticas, incluyendo insulina, GLUT2 y Pdx-1 (factor 1 del promotor de insulina o homeobox 1 pancreático /duodenal). Además, se mostró que eran sensibles a la estimulación de la glucosa y capaces de secretar insulina. Su competencia funcional se demostró, aun más, cuando se trasplantaron a ratones diabéticos inducidos por estreptozotocina. El resultado fue la normalización de la glucosa plasmática en una semana, demostrando su eficacia en el tratamiento de la hiperglucemia^{25,40}.

Mientras que el estudio inicial de *lanus et al*³⁴ afirmó mostrar transdiferenciación de células madre de médula ósea directamente en células beta pancreáticas, todos los estudios *in vivo* posteriores no mostraron cualidades productoras de insulina de las células madre de médula ósea productoras de proteínas fluorescentes verdes trasplantadas. Así, los resultados del estudio de *lanus et al*³⁴ pueden ser únicos para las condiciones experimentales presentes durante su investigación. Sin embargo, no hay duda de que las células madre de médula ósea son capaces de estimular la regeneración de las células beta en el tejido pancreático dañado por una variedad de mecanismos, convirtiéndolas en una opción atractiva para tratar o curar la DM1. El progreso demostrado por los estudios *in vitro* en la producción de células productoras de insulina capaz de restaurar la normoglucemia en ratones diabéticos también tiene potencial para el futuro¹⁸.

En otro estudio publicado en 2017 por *Domouky et al*³⁰ cuyo objetivo era aclarar y comparar el potencial terapéutico de las células madre mesenquimatosas diferenciadas y no diferenciadas, como una nueva línea de terapia para la DM1, se usaron ratas hembras divididas en grupo control y ratas con diabetes que fueron trasplantadas con células mesenquimatosas derivadas de médula ósea de ratas macho o células diferenciadas productoras de insulina. En las ratas trasplantadas con células mesenquimatosas hubo reducción de la hiperglucemia en el día 15; mientras que las trasplantadas con células diferenciadas productoras de insulina, normalizaron la glucemia al día 7. El análisis histológico y morfométrico del páncreas de ratas diabéticas experimentales mostró mejoría en el grupo tratado con células mesenquimatosas, pero en el grupo tratado con células diferenciadas, volvió a la normalidad, con distribución normal de las células beta en el centro y otras células en la periferia. Mientras tanto, la mayoría de las lesiones patológicas todavía se detectaban en ratas diabéticas. Los autores concluyen que el trasplante de células madre mesenquimatosas puede reducir el nivel de glucosa en sangre en ratas diabéticas receptoras, las células diferenciadas productoras de insulina inician la regeneración endógena pancreática por neogénesis de islotes y éstas últimas son mejores que las mesenquimatosas en la regeneración de las células beta. Por lo tanto, la terapia con células diferenciadas se puede considerar clínicamente para ofrecer una esperanza para los pacientes con DM1³⁰.

En seres humanos, se ha demostrado que en el HSCT alogénico, la DM1 puede transmitirse en trasplantes de médula ósea, lo que significa que la enfermedad puede transmitirse a través de células madre. El primer caso de transferencia adoptiva de DM1 en un ser humano fue informado por *Vialettes et al*^{3,41}. Sin embargo, los pacientes con DM1 que se sometieron a HSCT para tratar la leucemia u otras enfermedades hematológicas no presentaron ninguna mejora en su diabetes después del trasplante⁴². La explicación de este hallazgo es que estos pacientes ya tenían diabetes durante varios años y sólo tenían pequeñas cantidades de masa de células β y las células madre hematopoyéticas utilizadas en tales trasplantes no son capaces de diferenciarse en un número significativo de células beta e inducir la remisión en pacientes con enfermedad de larga data³.

*Cai et al*⁴³ también publicaron un estudio cuyo objetivo era determinar la seguridad y los efectos sobre la secreción de insulina del trasplante de células del estroma mesenquimal del cordón umbilical, más el trasplante autólogo de células madre mononucleares de la médula ósea sin inmunoterapia en la DM1. Encontraron que el tratamiento fue bien tolerado y que en un año de seguimiento, el control

metabólico del grupo tratado mejoró. El área bajo la curva mejoró en un 105,7% en la mayoría de los pacientes tratados (20 de 21 pacientes) vs el grupo control, donde esta misma disminuyó un 7,7%. La secreción de insulina aumentó en un 49,3% en los tratados vs una disminución de la misma en un 5,7% en el grupo control. La hemoglobina glicada (HBA1C) disminuyó un 12,6% en los tratados vs un aumento de la misma en un 1,2% en los no tratados. La glicemia en ayunas disminuyó un 24,4% en los tratados vs un 4,3% en el grupo control. Finalmente, los requerimientos de insulina diaria disminuyeron un 29% en el grupo tratado, vs no cambios en el grupo control. Los autores concluyeron que el trasplante de células mesenquimatosas estromales de cordón umbilical y células mononucleares autólogas de médula ósea fue un tratamiento seguro y se asoció con una mejoría notable en el control metabólico de los pacientes con DM1 establecida⁴³.

Trasplante de células madre pancreáticas

Quizás el lugar más lógico, para empezar a buscar un medio para regenerar las células beta perdidas, es el propio páncreas. Se sabe que la masa de células beta aumenta notablemente durante el desarrollo y que puede fluctuar con cambios fisiológicos como la obesidad y el embarazo⁴⁴. Además, se ha demostrado que la regeneración significativa del tejido pancreático, incluyendo la masa de células beta, se produce en ratas adultas después de una pancreatectomía del 90%⁴⁵. Sin embargo, aún no es claro si estas nuevas células beta se derivan de la división mitótica de las células beta existentes o de la diferenciación de las células madre pancreáticas. Con este fin, los estudios de rastreo de linaje genético han demostrado que las células beta existentes son la fuente primaria de nuevas células beta in vivo, aunque otros estudios también han encontrado evidencia de la participación de células madre pluripotentes en la regeneración de células beta⁴⁶. En uno de estos estudios, *Wang et al*⁴⁷ utilizó la ligadura del conducto pancreático para instigar una respuesta regenerativa en ratas. Descubrió que había una considerable hiperplasia de células de islote compuesta principalmente por células tipo beta; sin embargo, estas células no eran del todo idénticas a las células beta normales, no expresaban todos sus mismos marcadores en los mismos niveles exactos. El estudio sugiere que estas nuevas células beta se derivaron del compartimiento de células madre y los autores postularon que las células del conducto exocrino se diferenciaron y proliferaron para formar las nuevas células beta¹⁸. Se descubrió más evidencia de transdiferenciación de células ductales cuando se descubrió que muestras ex vivo reexpresaban el factor 1 del promotor de insulina o homeobox 1 pancreático /duodenal (IPF-1 / Pdx-1), que se sabe desempeña un

papel vital en el desarrollo del páncreas y la neogénesis de las células endocrinas⁴⁸. Cuando estas células ductales se cultivaron *in vitro*, pudieron estimular la formación de grupos de islotes que fueron capaces de producir insulina en respuesta a la glucosa^{18,49}.

Sin embargo, recientemente, la teoría ductal de la regeneración de células beta ha sido directamente cuestionada. *Furayama et al*⁵⁰ utilizaron métodos de trazado de linaje basados en Cre-Lox para determinar que las células ductales pancreáticas se producen fisiológicamente a partir de progenitores que expresan el factor de transcripción Sox9 (Sry-box 9). No se encontró ninguna evidencia de diferenciación de células beta de conducto Sox9 positivo o de células acinares, en múltiples experimentos de regeneración in vivo que implican un daño extenso de los islotes mediante pancreatectomía parcial, pancreatitis aguda inducida y ligadura de conducto pancreático. Con estos resultados, *Furayama et al*⁵⁰ postularon que durante el desarrollo embrionario, las células endocrinas se separan del revestimiento epitelial de los conductos pancreáticos para formar los islotes de Langerhans, separándolos de los grupos de progenitores positivos al Sox9 y de esta manera deben mantenerse a sí mismos a través de la duplicación de las células pre-existent^{18,50}.

Los investigadores también han encontrado que las células multipotentes podrían aislarse de los islotes humanos y de ratas. Estas células podrían diferenciarse en una serie de tipos de células, incluyendo el tejido endocrino pancreático. *Xu et al*⁵¹ encontraron que la mayoría de las células beta recién formadas después de la ligadura del conducto pancreático eran la progenie de células beta preexistentes. Sin embargo, fueron capaces de identificar células que comenzaron a volver a expresar el gen Ngn3 pro-endocrino en el revestimiento ductal de un páncreas adulto que fue sometido a la ligadura del conducto pancreático. Estas células, a su vez, se encontraron que eran pluripotentes y capaz de diferenciarse en los cuatro subtipos de células endocrinas pancreáticas^{18,51}.

*Teta et al*⁵² determinaron que el crecimiento y los procesos regenerativos de las células pancreáticas no implican progenitores especializados en un grado significativo. Usaron una técnica de rastreo de ADN para detectar la división celular in vivo. Con esta técnica, los progenitores especializados que se sometieron a múltiples rondas de división celular se marcaron con dos análogos. Sin embargo, se descubrió que muy pocas de las células beta replicadas estaban doblemente marcadas, lo que sugiere que el crecimiento y la regeneración estaban predominantemente mediadas por la replicación lenta de células maduras^{18,52}.

Los intentos de los investigadores para injertar cultivos de islotes humanos han fallado repetidamente. Se cree que esto no es debido al rechazo inmunológico, sino más bien atribuible a la ausencia de algún factor necesario para el cultivo del injerto de los islotes humanos. A pesar de este retroceso, podría ser posible el trasplante de células de islotes cultivados con islotes maduros con el fin de garantizar el injerto y proporcionar un depósito de células y neogénesis de los islotes para que el injerto sea viable a largo plazo^{18,49}.

*Zhou et al*⁵³ reprogramaron células de páncreas exocrino diferenciadas en células tipo beta in vivo utilizando una combinación de tres factores de transcripción: Ngn3, Pdx1 y Mafa. Dichas células eran indistinguibles en cuanto al tamaño, forma y estructura de las células beta endógenas, estas células tipo beta fueron capaces de mitigar la hiperglucemia mediante la remodelación de la vasculatura local y la secreción de insulina. Estas células no se agregaron in vivo para formar estructuras parecidas a islotes, pero su creación expone la importancia y la potencial capacidad de transdiferenciar directamente las células en un órgano adulto sin primero revertir las células a un estado pluripotente^{18,53}.

Trasplante de células madre hepáticas

Debido a que el páncreas es de origen endodérmico, otra fuente potencial de células madre pancreáticas serían otros tejidos derivados del endodermo, como el hígado. Se registran hallazgos prometedores en el uso del tejido hepático como fuente de células madre pancreáticas. *Ber et al*⁵⁴ encontraron que la administración ectópica de Pdx-1 en ratones a través de adenovirus, indujo un espectro de expresión endocrina y exocrina del gen pancreático. Pdx-1 es auto-inductor y mejora su propia expresión, lo que podría explicar la vida útil extendida de las células transdiferenciadas hepato-pancreáticas. La formación de tejido pancreático tendió a agruparse alrededor de las venas centrales hepáticas; tal vez, permitiendo la liberación de la hormona sin interferir con la función hepática normal. Más importante aún, la insulina hepática producida por estos tejidos inducidos por Pdx-1 fue suficiente para prevenir la hiperglucemia inducida por estreptozotocina ocho meses después del primer tratamiento^{18,54}.

En un estudio posterior, *Yang et al*⁵⁵ establecieron que en algunos casos, Pdx-1 reprogramó el tejido hepático para formar sólo precursores de células beta pancreáticas. La exposición adicional *in vitro* a niveles elevados de glucosa o hiperglucemia in vivo, fue necesaria para diferenciar los precursores en células productoras de insulina funcionales. Lamentablemente, hasta la fecha, no hay suficiente

evidencia para indicar que las células hepáticas modificadas puedan someterse a la expansión *in vitro* necesaria para crear tejido suficiente para la terapia de trasplante^{22,55}. Los resultados con el tejido hepático son prometedores y algo menos controversiales que la investigación con células madre pancreáticas. Como el hígado es fácilmente accesible para las biopsias y puede regenerar tejido perdido, resulta un candidato ideal para el tejido de origen en el injerto autólogo de células transdiferenciadas²².

La investigación futura debería centrarse en identificar un medio para facilitar la expansión *in vitro* del tejido hepático transdiferenciado. Además, será importante encontrar un mecanismo para inducir la transdiferenciación in vivo de manera segura en los seres humanos¹⁸.

Conclusiones

La DM1 es una enfermedad caracterizada por la destrucción, inmunemente mediada, de las células beta productoras de insulina. Esto se debe, en gran parte, a un defecto innato en el sistema inmune que culmina en la pérdida de la auto-tolerancia, la destrucción completa de las células beta y finalmente, la DM1. La insulino terapia es el pilar del tratamiento, sin embargo no logra un control metabólico total ni la erradicación de las complicaciones.

Los resultados de las investigaciones sobre el uso de células madre para la terapia en la DM1 son prometedores, pero carecen de consenso y consistencia. Mientras que las células madre de la médula ósea parecen ofrecer la evidencia más convincente, también hay evidencia a favor de tratamientos con células madre hepáticas y pancreáticas.

Las investigaciones con células madre pancreáticas han producido hallazgos interesantes. Sin embargo, los estudios futuros necesitan determinar definitivamente si estas células existen en pacientes diabéticos y cómo pueden estimularse para diferenciarse in vivo. También es necesario determinar el mecanismo por el cual el tejido pancreático exocrino se desdiferencia, de modo que estos factores puedan ser aislados y usados terapéuticamente.

Los resultados de los estudios con células madre hepáticas han mostrado ser menos ambiguos, pero probablemente estén más lejos de contribuir a las técnicas terapéuticas en humanos. No obstante, la fácil accesibilidad del hígado y sus importantes capacidades regenerativas lo hacen ideal para el injerto autólogo de células transdiferenciadas. Las investigaciones futuras deberían concentrarse en la expansión *in vitro* del tejido hepático transdiferen-

Tabla 1. Comparación de las ventajas y desventajas de las diferentes células madre.

Tipo de trasplante	Ventajas	Desventajas
Páncreas	Ideal	Procedimiento invasivo, solo en pacientes con complicaciones avanzadas, requiere inmunosupresión constante, poca disponibilidad de donantes, resultados contradictorios (Complicaciones renales)
HSCT autólogo	Disponibles, fuente a largo plazo de células β , mínima inmunosupresión, pocos problemas de rechazo	Necesidad de más ensayos clínicos
HSCT alogénico y células mesenquimatosas	Elimina células inmunocompetentes anormales responsables de la DM1, menos problemas de compatibilidad, rechazo y enfermedad de injerto contra huésped (Mesenquimatosas)	Resultados contradictorios y no replicables en los estudios
Células madre pancreáticas	Regeneración del tejido pancreático	Células producidas no son idénticas a las células β normales Intentos fallidos en injertos de cultivos humanos
Células madre pancreáticas	Mismo origen endodérmico, fácil acceso a biopsias y extracción	Diferenciación a células hepáticas y pancreáticas No suficiente evidencia hasta la fecha

ciado y la reintroducción segura de estas células en los pacientes.

Los tratamientos con células madre embrionarias, a pesar de ser prometedores, llevan consigo una controversia ética y esto obstaculiza su estudio y desarrollo para la terapia humana. Las investigaciones en modelos murinos son limitadas pero prometedoras y, a pesar de que los mecanismos aun no son bien comprendidos, los resultados son alentadores para la investigación que se mueve hacia terapias humanas.

Por último, las células madre de la médula ósea son quizás los candidatos más atractivos de origen no pancreático debido a sus protocolos clínicos establecidos, su diferenciación demostrada (aunque no repetida) en las células beta pancreáticas y su eficacia probada en la estimulación de la regeneración de células beta en el tejido pancreático dañado. Los estudios murinos in vivo han demostrado consistentemente que el trasplante de células madre de médula ósea provoca una reducción en los niveles de glucosa en plasma, un aumento en la insulina sistémica y una inhibición de la respuesta inmune mediada por células T contra las recién formadas células beta. Esta terapia puede entonces proporcionar el mejor tratamiento. Una ventaja secundaria, pero no despreciable, es que

las células madre de la médula ósea evitan los problemas éticos asociados con las células madre embrionarias humanas. Con la investigación continua, las células madre de la médula ósea y otros tratamientos basados en células madre tienen ventajas y desventajas (Tabla 1) y el potencial de impulsar la medicina hacia una cura permanente para la DM1.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés en relación a este artículo.

Referencias Bibliográficas

1. Editors G, Acerini C, Craig ME, Beaufort C De, Maahs DM, Hanas R. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014 . Other complications and diabetes-associated conditions in children and adolescents International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes (ISPAD) Guidelines 2014. Int Soc Pediatr Adolesc Diabetes. 2014;(August 2016):270–8.
2. Of S, Care diabetes M. STANDARDS OF MEDICAL CARE Standards of Medical Care in Diabe-

- tes d 2016. *J Clin Appl Res Educ DIABETES CARE*. 2016;39:86-93.
3. Mabed M. The Potential Utility of Bone Marrow or Umbilical Cord Blood Transplantation For the Treatment of Type I Diabetes Mellitus. *Biol Blood Marrow Transplant* [Internet]. 2017;17(4):455–64. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2010.06.002>.
 4. Watkins RA, Evans-molina C, Blum JS, Dimeglio LA. Established and emerging biomarkers for the prediction of type 1 diabetes: a systematic review. *Transl Res* [Internet]. 2014;164(2):110–21. doi: <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2014.02.004>.
 5. Howson JMM, Stevens H, Smyth DJ, Walker NM, Chandler KA, Bingley PJ, et al. Evidence That HLA Class I and II Associations With Type 1 Diabetes, Autoantibodies to GAD and Autoantibodies to IA-2, Are Distinct. *Diabetes*. 2011;60:2635-44.
 6. Barrett JC, Clayton D, Concannon P, Akolkar B, Jason D, Erlich HA, et al. Genome-wide association study and meta-analysis finds over 40 loci affect risk of type 1 diabetes. *Nat Genet*. 2010;41(6):703-7.
 7. Lambert AP, Gillespie KM, Thomson G, Cordell HJ, Todd JA, Gale EAM, et al. Absolute Risk of Childhood-Onset Type 1 Diabetes Defined by Human Leukocyte Antigen Class II Genotype?: A Population-Based Study in the United Kingdom. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:4037-43.
 8. Nguyen C, Varney MD, Harrison LC, Morahan G. Definition of High-Risk Type 1 Diabetes HLA-DR and HLA-DQ Types Using Only Three Single Nucleotide Polymorphisms. *Diabetes*. 2013;62:2135-40.
 9. Ziegler AG, Rewers M, Simell O, Simell T, Lempainen J, Steck A, et al. Seroconversion to Multiple Islet Autoantibodies and Risk of Progression to Diabetes in Children. *JAMA*. 2016;309(23):2473-9.
 10. Yeung WG, Rawlinson WD, Craig ME. Enterovirus infection and type 1 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis of observational molecular studies. *BJM*. 2010;342:d35. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.d35>.
 11. Laitinen OH, Honkanen H, Pakkanen O, Oikarinen S, Hankaniemi MM, Huhtala H, et al. Coxsackievirus B1 Is Associated With Induction of β -Cell Autoimmunity That Portends Type 1 Diabetes. *Diabetes*. 2014;63:446-55.
 12. Richardson SJ, Leete P, Bone AJ, Foulis AK, Morgan NG. Expression of the enteroviral capsid protein VP1 in the islet cells of patients with type 1 diabetes is associated with induction of protein kinase R and downregulation of Mcl-1. *Diabetologia*. 2013;56:185-93.
 13. Tamborlane W V, Sikes KA. Insulin Therapy in Children and Adolescents Insulin therapy Pediatrics MDI Pump therapy. *Endocrinol Metab Clin NA* [Internet]. 2012;41(1):145–60. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2012.01.002>
 14. Beck JK, Cogen FR. Outpatient Management of Pediatric Type 1 Diabetes. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2015;20(5):344-57.
 15. Pavlakis M, Khwaja K. Pancreas and islet cell transplantation in diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2007;14:146-50.
 16. Choi JY, Jung JH, Shin S, Kim YH, Han DJ. Association between the pancreas transplantation and survival of patients with diabetes: A single center experience. *PLoS One*. 2017;12(11):e0186827.
 17. Shin S, Jung CH, Choi JY, Kwon HW, Jung JH, Kim YH, et al. Long-term effects of pancreas transplant alone on nephropathy in type 1 diabetic patients with optimal renal function. *PLoS One*. 2018;13(1):1-13.
 18. Godfrey KJ, Mathew B, Bulman JC, Shah O, Clement S, Gallicano GI. Review Article Stem cell-based treatments for Type 1 diabetes mellitus?: bone marrow , embryonic , hepatic , pancreatic and induced pluripotent stem cells. *DIABETICMedicine*. 2012;29:14-23.
 19. Thomson J, Itskovitz-Eldor J, Shapiro S, Waknitz M, Swiergiel J, Marshall V, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* (80-). 1989;282(November):1145-7.
 20. Otonkoski T, Banerjee M, Lundin K. Stem cells as a cure for diabetes. *Pancreat Beta Cell Heal Dis*. 2008;97:265-84.
 21. Chute JP. Chapter 8 - Hematopoietic Stem Cell Biology. *Hematology: Basic Principles and Practice*. Elsevier Inc.; 2017. 78-87.
 22. Jones PM, Courtney ML, Burns CJ, Persaud SJ. Cell-based treatments for diabetes. *Drug Discov Today*. 2008;13:888-93.
 23. Burt RK, Traynor A, Barr WG, Rosa R, Schroeder J, Quigley K, et al. Non-myeloablative Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Syste-

- mic Lupus Erythematosus. *JAMA*. 2017;295(5):527-35.
24. Burt RK, Slavin S, Burns WH, Marmont AM. Induction of tolerance in autoimmune diseases by hematopoietic stem cell transplantation: getting closer to a cure? *Am Soc Hematol*. 2017;99(3):768-85.
 25. Stracieri ABPL, Oliveira MC, Simo BP, Squiers E, Burt RK. Autologous Nonmyeloablative Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Newly Diagnosed Type 1 Diabetes Mellitus. *JAMA*. 2017;297(14).
 26. Couri CEB, Oliveira MCB, Stracieri ABPL, Moraes DA, Madeira MIA, Malmegrim KCR, et al. C-Peptide Levels and Insulin Independence Following Autologous Nonmyeloablative Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Newly Diagnosed Type 1 Diabetes Mellitus. *JAMA*. 2017;301(15).
 27. Rocío D, Cardós C. Trasplante de médula ósea. *Médica Sur, México*. 2000;7:68–72.
 28. Sykes M, Nikolic B. Treatment of severe autoimmune disease by stem-cell transplantation. *Nature*. 2005;435:620-7.
 29. McIntosh K, Zvonic S, Garrett S, Mitchell JB, Floyd ZE, Hammill L, et al. The Immunogenicity of Human Adipose-Derived Cells: Temporal Changes In Vitro. *Stem Cells*. 2006;24(5):1246-53.
 30. Domouky AM, Hegab AS, Al-Shahat A, Raafat N. Mesenchymal stem cells and differentiated insulin producing cells are new horizons for pancreatic regeneration in type I diabetes mellitus. *Int J Biochem Cell Biol*. 2017;87:77–85.
 31. Abdi R, Fiorina P, Adra CN, Atkinson M, Sayegh MH. Immunomodulation by mesenchymal stem cells: A potential therapeutic strategy for type 1 diabetes. *Diabetes*. 2008;57(7):1759-67.
 32. Fiorina P, Voltarelli J, Zavazava N. Immunological applications of stem cells in type 1 diabetes. *Endocr Rev*. 2011;32(6):725-54.
 33. Sekita K, Muso ERI, Tochino Y, Idaii T, Kuzuya H, Imurahi H, et al. Prevention of type I diabetes in nonobese diabetic mice by allogeneic bone marrow transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985;82:7743-7.
 34. Janus A, Holz GG, Theise ND, Hussain MA. In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *J Clin Invest*. 2003;111(6):843-50.
 35. Choi JB, Uchino H, Azuma K, Iwashita N, Tanaka Y, Mochizuki H, et al. Little evidence of transdifferentiation of bone marrow-derived cells into pancreatic beta cells. *Diabetologia*. 2003;46:1366-74.
 36. Hasegawa Y, Ogihara T, Yamada T, Ishigaki Y, Imai J, Uno K, et al. Bone Marrow (BM) Transplantation Promotes Beta-Cell Regeneration after Acute Injury through BM Cell mobilization. *Endocrinology*. 2015;148(5):2006-15.
 37. Hess D, Li L, Martin M, Sakano S, Hill D, Strutt B, et al. Bone marrow – derived stem cells initiate pancreatic regeneration. *Nature*. 2003;21(7):763-70.
 38. Mathews V, Hanson PT, Ford E, Fujita J, Polonsky KS, Graubert TA. Recruitment of Bone Marrow Derived Endothelial Cells to Sites of Pancreatic Beta Cell Injury. *Diabetes*. 2004;53(22):91-8.
 39. Urban V, Kiss J, Kovacs J GE. Mesenchymal Stem Cells Cooperate with Bone Marrow Cells in Therapy of Diabetes. *Stem Cells*. 2008;26:244-53.
 40. Tang DQ, Cao LZ BB et al. In Vivo and In Vitro Characterization of Insulin-Producing Cells Obtained From Murine Bone Marrow. *Diabetes*. 2004;53(7):1721-32.
 41. Vialettes B, Maraninchi D, Marco MPS, Birg F, Stoppa AM, Thivolet C, et al. *Diabetologia*. 1993;1(36):541-6.
 42. Hinterberger W, Marmont A. Immune modulation Clinically demonstrable anti-autoimmunity mediated by allogeneic immune cells favorably affects outcome after stem cell transplantation in human autoimmune diseases Summary?: Bone Marrow Transplant. 2002;30:753-9.
 43. Cai J, Wu Z, Xu X, Liao L, Chen J, Huang L, et al. Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cell with Autologous Bone Marrow Cell Transplantation in Established Type 1 Diabetes: A Pilot Randomized Controlled Open-Label Clinical Study to Assess Safety and Impact on Insulin Secretion. *Diabetes Care*. 2016;39(1):149-57.
 44. Bonner-Weir S. Life and death of the pancreatic beta cells. *J Clin Invest*. 2000;11(105):1117-24.
 45. Bonner-Weir S, Baxter LA, Schupp GT, Smith FE. A second pathway for regeneration of adult

- exocrine and endocrine pancreas: A possible recapitulation of embryonic development. *Diabetes*. 1993;42(12):1715-20.
46. Dor Y, Brown J, Martinez OI, Melton DA. Adult pancreatic β -cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature* [Internet]. 2004;429(6987):41–6. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nature02520>.
47. Wang R, Kloppel G BL. Duct- to islet-cell differentiation and islet growth in the pancreas of duct-ligated adult rats. *Diabetologia*. 1995;38(12):1405-11.
48. Gmyr V, Kerr-Conte J, Belaich S, Vandewalle B, Leteurtre E, Vantyghem MC, et al. Adult human cytochrome 19-positive cells reexpress insulin promoter factor 1 in vitro: Further evidence for pluripotent pancreatic stem cells in humans. *Diabetes*. 2000;49(10):1671-80.
49. Gao R, Ustinov J, Pulkkinen M-A, Lundin K, Korsgren O, Otonkoski T. Characterization of Endocrine Progenitor Cells and Critical Factors for Their Differentiation in Human Adult Pancreatic Cell Culture. *Diabetes* [Internet]. 2003;52(8):2007–15. Available from: <http://diabetes.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/diabetes.52.8.2007>
50. Furuyama K, Kawaguchi Y, Akiyama H, Horiguchi M, Kodama S, Kuhara T, et al. Continuous cell supply from a Sox9-expressing progenitor zone in adult liver, exocrine pancreas and intestine. *Nat Genet* [Internet]. 2011 Jan;43(1):34–41. doi: <https://doi.org/10.1038/ng.722>.
51. Xu X, D'Hoker J, Stangé G, Bonné S, De Leu N, Xiao X, et al. β Cells Can Be Generated from Endogenous Progenitors in Injured Adult Mouse Pancreas. *Cell*. 2008;132(2):197-207.
52. Teta M, Rankin MM, Long SY, Stein GM, Kushner JA. Growth and Regeneration of Adult β Cells Does Not Involve Specialized Progenitors. *Dev Cell*. 2007;12(5):817-26.
53. Zhou Q, Brown J, Kanarek A, Rajagopal J, Melton DA. In vivo reprogramming of adult pancreatic exocrine cells to β -cells. *Nature*. 2008;455:627-32.
54. Ber I, Shternhall K, Perl S, Ohanuna Z, Goldberg I, Barshack I, et al. Functional, persistent, and extended liver to pancreas transdifferentiation. *J Biol Chem*. 2003;278(34):31950-7.
55. Yang L-J. Liver stem cell-derived beta-cell surrogates for treatment of type 1 diabetes. *Growth (Lakeland)*. 2008;23(1):1-7.