

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

МАСТЕР РАД
ТЕРАПИЈСКИ ПОТЕНЦИЈАЛ ПРИМЕНЕ МАТИЧНИХ
ЋЕЛИЈА У ЛЕЧЕЊУ ДИЈАБЕТЕСА ТИПА 1

Ментор:

Немања Јовичић, ванредни професор

Студент:

Миљана Китић

Крагујевац, 2024.

САДРЖАЈ

СКРАЋЕНИЦЕ.....	3
УВОД.....	5
1. ДИЈАБЕТЕС МЕЛИТУС ТИП 1.....	6
1.1.1. Епидемиологија.....	6
1.1.2. Етиологија.....	7
1.1.3. Патогенеза.....	9
1.1.4. Клиничка слика и дијагноза.....	11
1.1.5. Тренутна терапија.....	13
2. МАТИЧНЕ ЋЕЛИЈЕ: ПОЈАМ, ЗНАЧАЈ И ПОДЕЛА.....	14
2.1. Потентност матичних ћелија.....	17
2.2. Регенративна медицина и матичне ћелије.....	18
3. УЛОГА МАТИЧНИХ ЋЕЛИЈА У ЛЕЧЕЊУ ДИЈАБЕТЕС МЕЛИТУСА ТИП 1.....	19
3.1. Мезенхималне стем ћелије.....	22
3.1.1. Матичне ћелије са пореклом ван коштане сржи.....	26
3.2. Хематопоеетске матичне ћелије.....	30
3.3. Ембрионалне и индуковане плурипотентне матичне ћелије.....	31
3.4. Прогениторске ћелије панкреаса.....	33
4. ТРАНСПЛАНТАЦИЈА И ТРЕНУТНЕ НЕДОУМИЦЕ.....	37
4.1. Припрема пацијента.....	38
4.2. Изолација и припрема матичних ћелија.....	38
4.3. Трансплантација ћелија.....	39
4.3.1. Интрапортална трансплантација.....	40
4.3.2. Трансплантација у панкреасно ткиво.....	40
4.3.3. Трансплантација под капсулу бубрега.....	41
4.4. Постоперативна нега и имунолошки надзор.....	41
4.5. Изазови и будући правци истраживања.....	42
4.5.1. Примена хемијски активираних плурипотентних матичних ћелија у терапији дијабетеса мелитуса типа 1.....	44
ЗАКЉУЧАК.....	48
ЛИТЕРАТУРА.....	49

СКРАЋЕНИЦЕ

T1DM- *type 1 diabetes mellitus*

ICA- *islet cell cytoplasmic antibodies*

IAA- *antibodies to insulin*

GAD65- *glutamic acid decarboxylase isoform 65*

IA2- *insulinoma antigen 2/islet tyrosine phosphatase 2*

ZnT8- *zinc transporter isoform 8*

APCs- *antigen presenting cell*

TNF- α - *tumor necrosis factor alpha*

IFN- γ - *Interferon gamma*

IL- *interleukin (6,10)*

DE- *dual expresser cells*

SC- *stem cell*

ASCs- *adult stem cells*

MSCs- *mesenchymal stem cells*

FSCs- *fetal stem cells*

ESCs- *embryonic stem cells*

iPSCs- *induced pluripotent stem cells*

PDMSCs- *placenta-derived multipotent stem cells*

BM-MSCs- *marrow-derived mesenchymal stem cells*

UC-MSCs - *umbilical cord-derived mesenchymal stem cells*

AD-MSCs- *adipose-derived mesenchymal stem cells*

TGF- β - *tumor growth factor β*

HGF- *hepatocyte growth factor*

PGE2- *prostaglandin E2*

NGN3- *neurogenin3*

RA- *retinoic acid*

Pref-1- *preadipocyte factor 1*

UCB- *umbilical cord blood*

HSCs- *hematopoietic stem cells*

УВОД

Дијабетес мелитус тип 1 је аутоимунска болест коју карактерише деструкција β ћелија панкреаса које производе инсулин, што доводи до хроничне хипергликемије и потребе за егзогеном применом инсулина како би се регулисао ниво глукозе у крви. Упркос напретку у терапији бројним инсулинским препаратима, одржавање оптималне гликемијске контроле и даље представља изазов за многе пацијенте. Компликације, као што су кардиоваскуларне болести, нефропатија, неуропатија и ретинопатија, и даље су честе код особа са дијабетесом типа 1, упркос интензивном лечењу.

Последњих година, истраживања су се интензивно фокусирала на развој алтернативних терапија које би могле да понуде дугорочно решење за обнављање функције β ћелија и омогућавање ендogene регулације нивоа глукозе. У том контексту, матичне ћелије су се показале као обећавајућа терапијска опција у лечењу дијабетеса типа 1. Захваљујући својој способности да се диференцирају у различите типове ћелија, укључујући β ћелије, матичне ћелије пружају наду за терапијски приступ који би могао да замени оштећене или уништене ћелије панкреаса, потенцијално обезбеђујући трајно излечење или значајно побољшање стања пацијената.

Овај рад има за циљ да истражи улогу матичних ћелија у лечењу дијабетеса типа 1, са посебним фокусом на различите врсте матичних ћелија које су до сада проучаване, њихове потенцијале и изазове у клиничкој примени, као и будуће правце истраживања у овој области. Анализом постојећих студија и достигнућа у области регенеративне медицине, овај рад настоји да пружи свеобухватан преглед тренутног стања и перспектива коришћења матичних ћелија као терапије за дијабетес типа 1.

1. ДИЈАБЕТЕС МЕЛИТУС ТИП 1

Дијабетес мелитус тип 1 (енгл. *type 1 diabetes mellitus*, T1DM), је метаболичка болест која настаје услед оштећења β ћелија. β ћелије су ендокрине ћелије у панкреасу одговорне за производњу и лучење инсулина. Код T1DM, аутоимунско уништење β ћелија има за последицу доживотну терапију инсулином. Код дијабетеса типа 2, који је повезан са гојазношћу, β ћелије постају дисфункционалне и не успевају да обезбеде довољну количину инсулина. Код T1DM, инвазија и аутоимунска деструкција од стране CD4+ и CD8+ Т ћелија доводи до губитка масе β ћелија. Узроци овог аутоимунског процеса код T1DM су генетски и фактори спољашње средине, али није јасно да ли имунски систем губи способност да разликује сопствене и стране ћелије или су β ћелије дефектне на начин који их чини метом за елиминацију.¹

Уништење или дисфункција β ћелија доводи до високог нивоа шећера у крви, јер β ћелије луче инсулин и могуће друге продукте који су кључни за правилну хомеостазу глукозе. β ћелије су веома осетљиве на глукозу, непрестано пратећи њене нивое у крви и лучећи прецизне количине инсулина као одговор на повећање концентрације глукозе. Без адекватног лучења инсулина, пацијенти са дијабетесом нису у стању да нормално метаболишу глукозу и контролишу њену концентрацију у крви. T1DM је хронично стање које се обично дијагностикује код деце и младих одраслих особа, при чему је егзогена примена инсулина неопходна у терапији болести. Не постоји познат начин за превенцију или излечење T1DM. Нелечени T1DM представља животно угрожавајући проблем због компликација, као што је кетоацидоза која може довести до церебралног едема и коме, при чему су деца под већим ризиком од одраслих.²

1.1.1. Епидемиологија

Године 2021. процењено је да је број особа које живе са тип 1 дијабетесом (T1DM) износио приближно 8,4 милиона широм света. Од тог броја, 1,5 милиона (18%) било је млађе од 20 година, 5,4 милиона (64%) било је узраста између 20 и 59 година, док је 1,6 милиона (19%) било старије од 60 година. Те године дијагностиковано је 500000 нових случајева (медијана старости при постављању дијагнозе била је 29 година), док је око 35000 недијагностикованих особа умрло у року од 12 месеци од појаве симптома. Петина (1,8 милиона) особа са T1DM

¹ DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, Hu FB, Kahn CR, Raz I, Shulman GI, et al. (2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers* 1:15019. doi:10.1038/nrdp.2015.19

² Cryer PE. (2013). Mechanisms of hypoglycemia-associated autonomic failure in diabetes. *N Engl J Med* 369:362–372. doi:10.1056/NEJMr1215228

живела је у слабо развијеним земљама. До 2040. године предвиђа се да ће број особа са T1DM порастати на 13,5–17,4 милиона. Просечан животни век детета од 10 година којем је дијагностикован T1DM износи само 13 година у неразвијеним земљама, док је у развијеним земљама просечан животни век оболелих од ове болести 65 година.³

Значајне компликације, укључујући дијастолну дисфункцију срца, дислипидемију и албуминурију, забележене су код адолесцената са T1DM, док је дисфункција ендотела примећена чак и раније током детињства.⁴ Штавише, приближно 30% пацијената са T1DM развија терминалну болест бубрега током свог живота.⁵ Лош квалитет живота и психолошко оптерећење такође су повезани са T1DM.^{6,7} Стога постаје очигледно да растућа учесталост T1DM широм света представља озбиљан изазов за јавно здравље.

1.1.2. Етиологија

Дијабетес мелитус тип 1 (T1DM) је мултифакторијална болест на коју утиче више гена. Чак и у случају хаплотипова који носе висок ризик и који су присутни код 90-95% деце са T1DM, само 5% или мање њих са одређеним хаплотипом заправо развије манифестни T1DM у општој популацији.⁸ Ово подржава чињеницу да морају постојати други фактори, генетски, епигенетски и/или фактори спољашње средине, који играју улогу у коначном одређивању манифестације болести. Према студијама које су испитивале утицај генома, преко 60 гена може утицати на ризик од развоја T1DM, а посебно они који утичу на HLA локусе. До 30%-50% генетског ризика за T1DM повезано је са HLA класе II алелима. Од гена HLA класе II, мутације које се налазе у HLA региону на хромозому бр21 показале су се као главни локус који је повезан са подложношћу за T1DM. Постоје и неколико *non*-MHC локуса који мање доприносе ризику од болести, као што су IFIH1, IL2RA, RPTN22.^{9,10,11,12}

³ Gregory G., Robinson T., Linklater S., Wang F., Colagiuri S., Beaufort C., Donaghue K., Magliano D., Maniam J., Orchard T., et al. Global incidence, prevalence, and mortality of type 1 diabetes in 2021 with projection to 2040: A modelling study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2022;10:741–760. doi: 10.1016/S2213-8587(22)00218-2.

⁴ Snell-Bergeon J.K., Maahs D.M. Diabetes: Elevated risk of mortality in type 1 diabetes mellitus. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2015;11:136–138. doi: 10.1038/nrendo.2014.245.

⁵ Reutens A.T. Epidemiology of diabetic kidney disease. *Med. Clin. N. Am.* 2013;97:1–18. doi: 10.1016/j.mcna.2012.10.001.

⁶ Nielsen H.B., Ovesen L.L., Mortensen L.H., Lau C.J., Joensen L.E. Type 1 diabetes, quality of life, occupational status and education level—A comparative population-based study. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2016;121:62–68. doi: 10.1016/j.diabres.2016.08.021.

⁷ Sharif K., Watad A., Coplan L., Amital H., Shoenfeld Y., Afek A. Psychological stress and type 1 diabetes mellitus: What is the link? *Expert Rev. Clin. Immunol.* 2018;14:1081–1088. doi: 10.1080/1744666X.2018.1538787.

⁸ Maahs DM, West NA, Lawrence JM, Mayer-Davis EJ. (2010). Epidemiology of type 1 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 39:481–497.

⁹ Pociot F. Type 1 diabetes genome-wide association studies: not to be lost in translation. *Clin Transl Immunology.* 2017;6:e162.

Снажан генетски утицај на настанак T1DM додатно је подржан ефектима породичног наслеђа. Интересантно је да потомци мајки са T1DM имају смањен ризик од развоја T1DM у поређењу са потомцима очева са T1DM. Студија коју су радили *Harjutsalo* и његова група, која је испитивала популацију у Финској (потомке пацијената са T1DM), показала је да је ризик од развоја T1DM био 1,7 пута већи ако је отац имао T1DM у поређењу са случајем када је мајка имала T1DM (инциденција од 7,8% у односу на 5,3%). Такође су открили да су синови (више него ћерке) родитеља са T1DM имали повећан ризик од развоја T1DM. Млађа старост мушког родитеља (у време дијагнозе) такође је показана као значајан предиктор, при чему су очеви којима је T1DM дијагностикован у доби од ≤ 4 године имали 2,66 пута већу вероватноћу да имају децу са T1DM него очеви којима је дијагноза постављена у доби од 15-17 година.¹³

Студије на близанцима су показале важну улогу гена и генетских модификација у развоју T1DM. Дизиготни (неидентични) близанци и браћа и сестре деле око 50% својих гена, док монозиготни или идентични близанци деле готово 100% својих гена, што значи да су разлике које се налазе између парова монозиготних близанаца вероватно резултат фактора околине или посттранслационе модификације хистона, активације микроРНК, метилације ДНК или стечене генетске дискорданције после зачећа. Више студија указује на значајно већу стопу усаглашености од ризика за T1DM код монозиготних близанаца него код дизиготних близанаца (23%-61% у односу на 0-27%).¹⁴

Поред генетских фактора, преовладава мишљење да вируси, фактори околине, укључујући исхрану, и/или други стресори могу покренути аутоимунско уништавање β ћелија. Неке студије су показале повећан ризик од развоја T1DM повезан са инфекцијама *Coxsackie* вирусима, ентеровирусима, цитомегаловирусом, вирусом рубеле, вирусом грипа Б, вирусом заушки и недавно, вирусом SARS-CoV-2 (COVID-19).^{15,16,17} У студији „Еколошке

¹⁰ Morahan G. (2012). Insights into type 1 diabetes provided by genetic analyses. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 19:263–270.

¹¹ van Belle TL, Coppieters KT, von Herrath MG. (2011). Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. *Physiol Rev* 91:79–118.

¹² Steck AK, Rewers (2011).MJ. Genetics of type 1 diabetes. *Clin Chem*.57:176–185.

¹³ Harjutsalo V, Reunanen A, Tuomilehto J. (2006). Differential transmission of type 1 diabetes from diabetic fathers and mothers to their offspring. *Diabetes* 55:1517–1524.

¹⁴ Edondo MJ, Rewers M, Yu L, Garg S, Pilcher CC, Elliott RB, Eisenbarth GS. (1999). Genetic determination of islet cell autoimmunity in monozygotic twin, dizygotic twin, and non-twin siblings of patients with type 1 diabetes: prospective twin study. *BMJ* 318:698–702.

¹⁵ Krischer JP, Liu X, Lernmark Å, Hagopian WA, Rewers MJ, She JX, Toppari J, Ziegler AG, Akolkar B., TEDDY Study Group. (2022). Predictors of the Initiation of Islet Autoimmunity and Progression to Multiple Autoantibodies and Clinical Diabetes: The TEDDY Study. *Diabetes Care* 45(10):2271-2281.

¹⁶ Zorena K, Michalska M, Kurpas M, Jaskulak M, Murawska A, Rostami S. (2022). Environmental Factors and the Risk of Developing Type 1 Diabetes-Old Disease and New Data. *Biology (Basel)* 11(4).

детерминанте дијабетеса код младих“ (енг. *The Environmental Determinants of Diabetes in the Young- TEDDY*), дођење није било повезано са ризиком од аутоимунског оштећења Лангерхансових острваца код деце са генетски повишеним ризиком. Међутим, у систематским прегледима и мета-анализама су изведени закључци да су дођење и касније увођење глутена, воћа и крављег млека у исхрану, били повезани са нижим ризиком од развоја T1DM.¹⁸

Присуство циркулишућих аутоантитела специфичних за антигене панкреасних острваца указује на то да је особа у ризику или да је развила T1DM. Ова антитела укључују цитоплазматска антитела, антитела на инсулин, GAD65 (енг. *glutamic acid decarboxylase isoform 65*), IA-2 (енг. *insulinoma antigen 2/islet tyrosine phosphatase 2*) и ZnT8 (енг. *zinc transporter isoform 8*). Анти-инсулинска антитела (енг. *antibodies to insulin-* (IAA)) се углавном откривају код деце.¹⁹ GAD65 је најчешће откривено аутоантитело код одраслих.²⁰ Цитоплазматска антитела ћелија острваца (енг. *islet cell cytoplasmic antibodies – (ICA)*) се више не препоручује у рутинској дијагностици, због недовољне поузданости. Што је већи број детектованих антитела и што је већи њихов титар, већи је ризик од развоја T1DM.

1.1.3. Патогенеза

Дијабетес мелитус тип 1 настаје као последица уништавања ћелија ендокриног панкреаса које производе инсулин, званих β ћелије, од стране имунског система. Овај процес је потпомогнут за сада непотпуно разјашњеном интеракцијом између генетских и фактора спољашње средине. Генетски фактори (тј. појединци са прекомерном експресијом молекула HLA класе DR4, DQ8 и DQ2, који повећавају њихову подложност, присутни су код приближно 90% пацијената са T1DM) и један или више фактора из околине доводе до препознавања компоненти β ћелија као аутоантигена које имунски систем погрешно препознаје као стране, што доводи до аутоимунске реакције. Идентификовани аутоантигени укључују пептид инсулин В ланца и друге компоненте секреторних гранула β ћелија.

¹⁷ Rahmati M, Keshvari M, Mirnasuri S, Yon DK, Lee SW, Il Shin J, Smith L. (2022). The global impact of COVID-19 pandemic on the incidence of pediatric new-onset type 1 diabetes and ketoacidosis: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol.* Nov;94(11):5112-5127.

¹⁸ Lampousi AM, Carlsson S, Löfvenborg JE. (2021) Dietary factors and risk of islet autoimmunity and type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *EBioMedicine.* Oct;72:103633.

¹⁹ Krischer JP, Liu X, Lernmark Å, Hagopian WA, Rewers MJ, She JX, Toppari J, Ziegler AG, Akolkar B., (2021) TEDDY Study Group. Characteristics of children diagnosed with type 1 diabetes before vs after 6 years of age in the TEDDY cohort study. *Diabetologia.* Oct;64(10):2247-2257.

²⁰ Holt RIG, DeVries JH, Hess-Fischl A, Hirsch IB, Kirkman MS, Klupa T, Ludwig B, Nørgaard K, Pettus J, Renard E, Skyler JS, Snoek FJ, Weinstock RS, Peters AL. (2022) Correction to: The management of type 1 diabetes in adults. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia.* Jan;65(1):255.

Присуство једног познатог аутоантитела даје умерени ризик од развоја T1DM, док присуство сваког додатног аутоантитела повећава ризик експоненцијално.²¹ Ови аутоантигени се презентују преко HLA молекула великих хистокомпатибилних комплекса (MHC) I и II класе. Аутореактивне CD4+ Т ћелије стимулишу антиген презентујуће ћелије, укључујући В ћелије које производе аутоантитела високог афинитета против β ћелија. Аутореактивне CD4 Т ћелије такође помажу цитотоксичним CD8+ Т ћелијама да стекну цитолитичку активност и нападну β ћелије ефекторним механизмима. Ослобођени цитокини такође стимулишу макрофаге и друге ћелије урођеног имунског система да даље оштећују β ћелије, стварајући позитивну повратну спрегу са производњом више токсичних цитокина који даље убрзавају уништење β ћелија.^{22,23}

Коришћењем проточне цитометрије, високопроточног секвенцирања и транскрипцијске анализе користећи РНК-секвенцирање, откривени су подтипови CD5+ В ћелија које укључују IL -10 производеће регулаторне В ћелије, FasL- експримирајуће В ћелије и DE (енг. *dual expresser cells*) ћелије које експримирају и В ћелијски рецептор (површински имуноглобулин) и Т ћелијски рецептор.²⁴ Резултати истраживања су показали да CDR3 регион тешког ланца површинског Ig на DE ћелијама представља изузетно моћан дијабетогени Т-ћелијски аутоантиген који је способан да стимулише друге Т ћелије и може допринети развоју T1DM, док слични аутоантигени са различитим CDR3 секвенцама могу бити укључени у патогенезу других аутоимунских болести.²⁵ Друга студија такође сугерише да би T1DM могао бити узрокован недостатком антиинфламаторних IL-10 продукујућих регулаторних В ћелија услед апоптозе посредоване FasL- експримирајућим В ћелијама, што доводи до неконтролисане пролиферације и ширења дијабетогених Т ћелија. Ово је подржано подацима о повећаним нивоима FasL- експримирајућих CD5+ В ћелија у слезини и лимфним чворовима пацијената са T1DM у поређењу са контролним групама, као и спречавањем развоја T1DM код NOD мишева без ових гена или мишева третираних FasL-

²¹ Maahs DM, West NA, Lawrence JM, Mayer-Davis EJ. (2010). Epidemiology of type 1 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am.*;39:481–497.

²² Burrack AL, Martinov T, Fife BT. T Cell (2017).-Mediated Beta Cell Destruction: Autoimmunity and Alloimmunity in the Context of Type 1 Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)*;8:343.

²³ Aghazadeh Y, Nostro MC. Cell Therapy for Type 1 Diabetes: Current and Future Strategies. *Curr Diab Rep.* 2017;17:37

²⁴ Ahmed R, Omidian Z, Donner T, Hamad (2018) ARA. Hiding in plain sight: time to unlock autoimmune clues in human CD5+ B cells by using nextgen technology. *Discov Med.*;26:79–83.

²⁵ Ahmed R, Omidian Z, Giwa A, Cornwell B, Majety N, Bell DR, Lee S, Zhang H, Michels A, Desiderio S, Sadegh-Nasseri S, Rabb H, Gritsch S, Suva ML, Cahan P, Zhou R, Jie C, Donner T, Hamad (2019). ARA. A Public BCR Present in a Unique Dual-Receptor-Expressing Lymphocyte from Type 1 Diabetes Patients Encodes a Potent T Cell Autoantigen. *Cell.*;177:1583–1599.e16.

неутралишућим моноклонским антителима. Додатне студије се спроводе како би се утврдила значајност блокирања FasL код људи и циљање DE ћелија као облика имунотерапије.²⁶

1.1.4. Клиничка слика и дијагноза

Развој тип 1 дијабетеса (T1DM) одвија се у три фазе:

- Фаза 1 је асимптоматска и карактерише се нормалном глукозом наше, нормалном толеранцијом на глукозу и присуством ≥ 2 панкреасних аутоантитела.
- Фаза 2 укључује дијагностичке критеријуме као што су присуство панкреасних аутоантитела (обично више њих) и дисгликемија: поремећена гликемија на празан стомак (глукоза на празан стомак од 100 до 125 mg/dL) или поремећена толеранција на глукозу (глукоза од 140 до 199 mg/dL два сата након уноса 75 g глукозе) или HbA1c (гликозилирани хемоглобин) од 5,7% до 6,4%. Појединци у овој фази остају асимптоматски.
- Фаза 3 се одликује дијабетесом, дефинисаним хипергликемијом (насумична глукоза ≥ 200 mg/dL) уз клиничке симптоме, глукозом на празан стомак ≥ 126 mg/dL, глукозом ≥ 200 mg/dL два сата након уноса 75 g глукозе током оралног теста толеранције на глукозу и/или HbA1c $\geq 6,5\%$. Ако оболели нема класичне симптоме хипергликемије или хипергликемијске кризе, препоручује се извођење два теста (истовремено или у различито време) ради потврде дијагнозе. Ако постоји акутна појава симптома са хипергликемијом, што се чешће дешава код младих са T1DM, HbA1c може бити непоуздан у време дијагнозе, те треба користити критеријуме засноване на нивоу глукозе.²⁷

T1DM, нарочито код деце, најчешће се представља симптомима хипергликемије, који могу бити изненадни и укључују полидипсију, полиурију, полифагију, ноћну енурезу, замагљен вид, нежељену губитак тежине, умор. Поред хипергликемије, могу бити присутне и абнормалности електролита. Ако се ови пацијенти не лече, може доћи до развоја дијабетичке

²⁶ Xiao Z, Mohamood AS, Uddin S, Gutfreund R, Nakata C, Marshall A, Kimura H, Caturegli P, Womer KL, Huang Y, Jie C, Chakravarti S, Schneck JP, Yagita H, Hamad AR. (2011) Inhibition of Fas ligand in NOD mice unmasks a protective role for IL-10 against insulinitis development. *Am J Pathol.*;179:725–732.

²⁷ Škrha J. ADA Standards of Medical Care in Diabetes 2022 - whats new? *Vnitr Lek.* 2022 Summer;68(2):85-88.

кетоацидозе која захтева хоспитализацију и лечење инфузионом терапијом, инсулином, калијумом и пажљиво праћење.²⁸

Код дијабетеса који почиње у одраслом узрасту, почетак симптома је варијабилнији него код деце, а дијабетичка кетоацидоза је ређа. У оваквим случајевима може бити тешко разликовати тип дијабетеса. GAD65 треба бити прво тестирано антитело када се сумња на T1DM код одраслих. Ако је резултат негативан и/или ако су доступна, треба такође измерити IA2 и ZnT8. Нивои C-пептида могу се користити када постоји сумња који тип дијабетеса је присутан. Треба извршити насумични тест C-пептида уз истовремено мерење серумске глукозе. Ако трајање дијабетеса прелази три године, C-пептид >600 pmol/L снажно указује на дијабетес типа 2. Низак (<200 pmol/L) или недетектабилан C-пептид потврђује дијагнозу T1DM.²⁹



Слика 1. Симптоми дијабетес мелитуса

(Извор : <https://www.novonordisk-us.com/disease-areas/diabetes.html>)

²⁸ Dabelea D, Rewers A, Stafford JM, Standiford DA, Lawrence JM, Saydah S, Imperatore G, D'Agostino RB, Mayer-Davis EJ, Pihoker C., (2014) SEARCH for Diabetes in Youth Study Group. Trends in the prevalence of ketoacidosis at diabetes diagnosis: the SEARCH for diabetes in youth study. Pediatrics. Apr;133(4):e938-45

²⁹ Holt RIG, DeVries JH, Hess-Fischl A, Hirsch IB, Kirkman MS, Klupa T, Ludwig B, Nørgaard K, Pettus J, Renard E, Skyler JS, Snoek FJ, Weinstock RS, Peters AL. (2022) Correction to: The management of type 1 diabetes in adults. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). Diabetologia. Jan;65(1):255

1.1.5. Тренутна терапија

Људи са T1DM захтевају терапију инсулином, праћење глукозе (по могућству континуираним мониторингом глукозе) као и образовање и подршку у личној контроли болести. Доступни су различити приступи:

- Вишеструке дневне инсулинске ињекције- користе базални (по могућству дуготрајни инсулин) и болус инсулин (инсулин за брзу апсорпцију).
- Континуирана поткожна инфузија инсулина - користи инсулинску пумпу брзу и континуирану апсорпцију инсулина.
- Аутоматизовани системи за давање инсулина (хибридни затворени систем) - користе инсулин за брзу апсорпцију. Ови системи за давање инсулина су повезани са мањим ризиком од хипогликемије.
- Супституција β ћелија се такође показала као ефикасна терапија за лечење T1DM, која се може постићи трансплантацијом панкреаса или острваца код пажљиво одабраних кандидата.³⁰

Током трансплантације панкреаса или острваца, и аутоимунски и алогени имунски механизми представљају значајну претњу која повећава ризик трансплантације. Пацијенти који се подвргавају терапијама замене ћелија морају доживотно користити имunosупресивне лекове, а у многим случајевима, ови лекови имају токсичне и друге нежељене ефекте. То ограничава примену ове стратегије лечења на само најтеже случајеве болести, што спречава ширу примену терапије трансплантације панкреаса или острваца код пацијената са T1DM.³¹

³⁰ Chiang JL, Kirkman MS, Laffel LM, Peters AL. (2014) Type 1 Diabetes Sourcebook A: Type 1 Diabetes Through the Life Span: A Position Statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 37(7):2034–54. doi: 10.2337/dc14-1140

³¹ Sneddon JB, Tang Q, Stock P, Bluestone JA, Roy S, Desai T, (2018) et al.. Stem Cell Therapies for Treating Diabetes: Progress and Remaining Challenges. *Cell Stem Cell* 22(6):810–23. doi: 10.1016/j.stem.2018.05.016

2. МАТИЧНЕ ЋЕЛИЈЕ: ПОЈАМ, ЗНАЧАЈ И ПОДЕЛА

Матичне ћелије (енг. *stem cells*) су неспецијализоване ћелије у веома раном стадијуму развоја које, под нормалним условима у одређеном ткиву, имају способност да се диференцирају у различите типове функционално специјализованих, зрелих ћелија. Оне имају кључну улогу у ембрионалном развоју и органогенези (код ембрионалних и феталних матичних ћелија), као и у одржавању ткивне хомеостазе и регенерацији (код адултних матичних ћелија).³²

Матичне ћелије се од других ћелијских типова разликују по две кључне карактеристике. Прво, оне су неспецијализоване ћелије способне за самообнављање кроз деобу, понекад чак и након дугих периода неактивности. Друго, под одређеним физиолошким или експерименталним условима, матичне ћелије могу бити усмерене да се развију у ћелије специфичних ткива или органа. У неким органима, као што су епител црева или коштана срж, матичне ћелије се континуирано деле и обнављају различите ћелијске типове у тим ткивима. Насупрот томе, у другим органима, као што су срце или панкреас, матичне ћелије се деле углавном у специфичним ситуацијама, пре свега након повреде или оштећења.³³

Матичне ћелије имају значајан потенцијал да се током живота диференцирају у велики број различитих типова ћелија организма. Оне нису карактеристичне само за ембрионални стадијум развоја, већ су присутне и у адултним ткивима, где играју улогу у обнављању ћелија током живота. У многим ткивима могу функционисати као „систем за поправку“ са потенцијалом неограничене деобе, што омогућава замену оштећених ћелија. Када се матична ћелија подели, свака нова ћелија има могућност да остане недиференцирана матична ћелија или да се развије у специјализовану ћелију.³⁴

Три основне карактеристике матичних ћелија су:

- 1) Способност самообнављања- јединствена способност континуиране деобе матичних ћелија у циљу сопствене репродукције. Наиме, матичне ћелије деобом дају две ћелије, од којих једна ћерка ћелија обнавља сопствену популацију, а друга путем пролиферације и диференцијације даје сукцесивно прогениторне, прекурсорске и потом зреле ћелије организма; таква деоба назива се асиметрична деоба.³⁵

³²Mountford, J.C., (2008) Human embryonic stem cells: origins, characteristics and potential for regenerative therapy. *Transfus Med.*;18(1): p. 1-12.

³³ Spencer ND, Chun R, Vidal MA, Gimble JM, Lopez MJ. (2011). Mesenchymal stromal cells: past, present, and future. *Vet Surg*;40(2):129-139.

³⁴ Karimineko S, Movassaghpour A, Rahimzadeh A, Talebi M, Shamsasenjan K, Akbarzadeh A. (2016). Implications of mesenchymal stem cells in regenerative medicine. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*; 44(3):749-757.

³⁵ Li H, Ghazanfari R, Zacharaki D, Lim HC, Scheduling S. (2016) Isolation and characterization of primary bone marrow mesenchymal stromal cells. *Ann N Y Acad Sci*; 1370(1):109-118.

- 2) Клоногеност- способност матичне ћелије да деобом да̂ клон, морфолошки и функционално идентичну ћерку ћелију³⁶
- 3) Потентност- означава могућност диференцијације матичних ћелија у различите ћелијске типове. У односу на потентност, матичне ћелије се деле на тотипотентне, плурипотентне, мултипотентне и унипотентне ћелије.³⁷

Матичне ћелије могу се класификовати у две основне категорије на основу њихове функције: нормалне и канцерске матичне ћелије. Према извору изолације, матичне ћелије се деле на **ембрионалне** (engl. *embryonic stem cells*, ESCs), **феталне** (engl. *foetal stem cells*, FSCs), **адултне** (engl. *adult stem cells*, ASCs) и **индуковане матичне ћелије**.³⁸

Ембрионалне матичне ћелије изоловане су из унутрашње масе бластоцисте и одликују се плурипотентношћу, што значи да могу да се диференцирају у све типове ћелија из свих три клицина листа.³⁹

Феталне матичне ћелије могу бити хематопоезне, мезенхималне, ендотелијалне, епителијалне и неуралне. Оне се најчешће изолују из пупчаника и ткива постелице.⁴⁰

Адултне матичне ћелије могу се изоловати из готово свих развијених ткива, где су присутне у одређеним деловима звани нише и служе као резервоари недиференцираних ћелија за регенерацију и одржавање хомеостазе.⁴¹

Иако ембрионалне матичне ћелије поседују велики капацитет за диференцијацију и брзу пролиферацију, њихова примена у терапији сусреће се са бројним изазовима. Ови изазови укључују ризик од имунолошких реакција, туморогени потенцијал, сложеност лабораторијске изолације и култивације, као и бројне етичке дилеме. Ови проблеми усмеравају истраживања и клиничку примену ка коришћењу адултних матичних ћелија у ткивном инжењерингу.⁴²

³⁶ Bukovsky A. Cell commitment by asymmetric division and immune system involvement. *Prog Mol Subcell Biol* 2007; 45:179-204.

³⁷ Marfia G, Navone SE, Di Vito C, Ughi N, Tabano S, Miozzo M, et al. (2015). Mesenchymal stem cells: potential for therapy and treatment of chronic non-healing skin wounds. *Organogenesis*; 11(4):183-206.

³⁸ Rezza A, Sennett R, Rendl M. Adult stem cell niches: cellular and molecular components. *Curr Top Dev Biol* 2014; 107:333-372.

³⁹ Morokoff A, Ng W, Gogos A, Kaye AH. (2015). Molecular subtypes, stem cells and heterogeneity: Implications for personalised therapy in glioma. *J Clin Neurosci*;22(8):1219-1226

⁴⁰ Thomson JA. (2004). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282(5391):1145-1147.

⁴¹ O'Donoghue K, Fisk NM. Fetal stem cells. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*;18(6):853-875.

⁴² Polymeri A, Giannobile WV, Kaigler D. (2016) Bone Marrow Stromal Stem Cells in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Horm Metab Res*;48(11):700-713.

До данас је присуство хуманих адултних матичних ћелија доказано у различитим ткивима, као што су коштана срж, периферна крв, фоликули длаке, епител дигестивног тракта, скелетни и срчани мишићи, плућа, мрежњача, мозак, јетра, панкреас, масно ткиво, синовија, периостијум и зуби. Иако су ове ћелије углавном у стању мировања, способне су за снажан одговор на оштећење ткива.⁴³⁴⁴

Ембрионалне матичне ћелије људи су у протеклом периоду интензивно коришћене у процесима вантелесне оплодње и у истраживачке сврхе. Хумане ембрионалне плурипотентне ћелије коришћене у експериментима најчешће се добијају из унутрашњег слоја бластоцисте ембриона одбачених приликом поступака *in vitro* оплодње. Гајење ембрионалних матичних ћелија у односу на адултне знатно је захтевније. Наиме након изолације, ове ћелије се чувају у боцама испуњеним специфичним медијумом, где се оне групишу формирајући своје микросредине и у којима продукују бројне факторе од значаја за даљу диференцијацију ћелија. На овај начин се формирају ембрионална телашца са сва три кличина листа у *in vitro* условима.⁴⁵

С обзиром на бројна етичка питања која се постављају у вези са изолацијом ембрионалних матичних ћелија из људских ембриона, као и на њихов потенцијал за формирање тумора након примене, тренутно су у фокусу истраживања клиничке примене адултних матичних ћелија које се могу изоловати из ткива одраслих особа.

Адултне матичне ћелије су присутне у зрелим ткивима и играју кључну улогу у одржавању ткивне хомеостазе, као и у поправци и регенерацији оштећеног ткива. Ове ћелије се налазе у скоро свим зрелим ткивима и могу се класификовати као **хематопоеетске, мезенхималне, неуралне и епителне**. За разлику од ембрионалних матичних ћелија, адултне матичне ћелије имају ограничену потентност, што значи да имају мању способност за трансдиференцијацију. Међутим, из адултних ткива могу се изоловати мултипотентне ћелије, које су способне да диференцирају у све типове ћелија које потичу из једног од три ембрионална слоја (мезодерм, ектодерм, ендодерм).⁴⁶

Прве идентификоване и највише проучаване адултне матичне ћелије су хематопоеетске матичне ћелије коштане сржи, које могу да се диференцирају у све типове ћелија крви. Хематопоеетске матичне ћелије играју важну улогу у обнови крвних ћелија и имунског

⁴³ Yang YJ, Li XL, Xue Y, Zhang CX, Wang Y, Hu X, Dai Q. (2016) Bone marrow cells differentiation into organ cells using stem cell therapy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*; 20(13):2899-2907.

⁴⁴ Malanchi I, Peinado H, Kassen D, (2008) Cutaneous cancer stem cell maintenance is dependent on catenin signalling. *Nature*; 452:650-3.

⁴⁵ Lerou PH, Daley GQ. (2005). Therapeutic potential of embryonic stem cells. *Blood Reviews.*; 19(6): 321-331.

⁴⁶ Stocum DL. (2001). Stem cells in regenerative biology and medicine. *Wound Repair Regen.*;9(6): 429-42.

система, док епителне и неуралне матичне ћелије могу да се диференцирају у ћелије ектодермалног и ендодермалног порекла. Мезенхималне матичне ћелије су најбројније и могу се развити у ткива мезодермалног порекла, укључујући коштану, мишићно, масно и хрскавичаво ткиво, као и тетиве и лигаменте.⁴⁷

Од 2006. године, научна заједница и јавност поново су усмерили пажњу на адултне матичне ћелије захваљујући открићу технике генетског репрограмирања диференцираних ћелија одраслог организма (на пример, кожных фибробласта). Овај поступак омогућава враћање диференцираних ћелија у њихово првобитно, матично стање, при чему попринимају особине плурипотентних матичних ћелија карактеристичних за ембрионе. Тај тип ћелија добио је назив индуковане плурипотентне матичне ћелије (engl. *induced pluripotent stem cells*, iPSC/*human-induced pluripotent stem cells*, hiPSC). Данас се iPSC ћелије широко користе у бројним истраживањима, делимично замењујући контраверзну употребу људских ембрионалних матичних ћелија.^{48,49}

2.1. Потентност матичних ћелија

Према потенцијалу за диференцијацију, матичне ћелије се могу поделити на:

1. **Тотипотентне**- настају непосредно након оплођења јајне ћелије, а пре формирања ембрионалних ткива и представљају најпримитивније матичне ћелије које поседују највећи или практично неограничени капацитет за диференцијацију. Ове ћелије се култивацијом у индукционим медијумима могу диференцирати у све ћелијске типове одраслог организма који воде порекло од три ембрионална ткива као и у екстраембрионална ткива.^{50,51,52}

У условима култивације без стимулуса за диференцијацију, ове ћелије остају недиференциране и задржавају тотипотентност⁵³

2. **Плурипотентне** - ембрионалне матичне ћелије које се развијају из унутрашњег слоја зигота у раном ембрионалном развоју. Ове плурипотентне ћелије су способне да изграде

⁴⁷ Sloan AJ, Waddington RJ. (2009). Dental pulp stem cells: what, where, how? *Int J Paediatr Dent.*;19(1): 61-70.

⁴⁸ Takahashi K, Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell* 2006;126(4): 663-676

⁴⁹ Huangfu D. (2008) Induction of pluripotent stem cells from primary human fibroblasts with only Oct4 and Sox2. *Nature Biotechnology.*;26(11):1269-1275.

⁵⁰ Weissman IL. (2000). Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell.*;100(1): 157-68.

⁵¹ Morrison SJ. (1996). The aging of hematopoietic stem cells. *Nat Med.*;2(9):1011-6.

⁵² Mimeault, M. and S.K. Batra, (2006). Concise review: recent advances on the significance of stem cells in tissue regeneration and cancer therapies. *Stem Cells.*; 24(11): p. 2319-45.

⁵³ Stocum DL. (2001). Stem cells in regenerative biology and medicine. *Wound Repair Regen.*;9(6): 429-42.

сва три герминална слоја (ендодерм, мезодерм и ектодерм) и да својом деобом обезбеде ћелије за развој свих ткива и органа у организму јединке. Индуковане плурипотентне ћелије имају много сличних карактеристика са ембрионалним матичним ћелијама али су настале репрограмирањем адултних ћелија као што су фибробласти или ћелије плаценте.⁵⁴

3. **Мултипотентне** - Матичне ћелије са ограниченом могућношћу диференцијације. Ове матичне ћелије могу да се диференцирају само у одређени број ткива која потичу из истог герминалног слоја. Мултипотентне матичне ћелије су усмерене ка развоју одређеног органа или ткива и у том смислу представљају најзрелији тип матичних ћелија.⁵⁵
4. **Олигопотентне** - могу диференцирати у неколико различитих типова ћелија.
5. **Унипотентне** - могу произвести само једну врсту ћелија, односно њихов сопствени тип. Међутим, оне су и даље матичне ћелије јер се могу обнављати. Примери укључују одрасле мишићне матичне ћелије.⁵⁶

2.2. Регенеративна медицина и матичне ћелије

Регенеративна медицина представља релативно нову грану медицине која интегрише знања, технике и вештине из молекуларне и ћелијске биологије, хемије, клиничке медицине, биомедицинског инжењеринга и науке о материјалима, с циљем обнављања и поправке функције ткива и органа изгубљених услед урођених анормалија, повреда, болести и старења. Главни приступи у регенеративној медицини укључују: ћелијску терапију, генску терапију, трансплантацију и инжењеринг ткива.

Ћелијске терапије (енг. *cell or cellular therapies*) и развој регенеративне медицине обухватају ново поље у области медицинских, фармацеутских и биолошких наука. Базиране су на употреби матичних и других врста ћелија у терапеутске сврхе. Терапије матичним ћелијама и другим врстама ћелија се могу уврстити у групу нових биотерапеутика за које се сматра да ће у следећој декади значајно повећати могућност излечења многих обољења. Матичне ћелије имају значајну улогу регенеративној медицини у којој се болести лече стварањем нових здравих ћелија и самим тим смањују потребу за трансплантацијом органа.⁵⁷

⁵⁴Takahashi K, Yamanaka S. (2006). Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*;126(4): 663-676.

⁵⁵Huangfu D. (2008). Induction of pluripotent stem cells from primary human fibroblasts with only Oct4 and Sox2. *Nature Biotechnology*.;26(11):1269-1275.

⁵⁶Marion NW, Mao JJ. (2006.). *Mesenchymal stem cells and tissue engineering Methods in enzymology*; 420: 339-361.

⁵⁷Kolios G, Moodley Y. (2013). Introduction to stem cells and regenerative medicine. *Respiration*; 85(1):3-10.

3. УЛОГА МАТИЧНИХ ЋЕЛИЈА У ЛЕЧЕЊУ ДИЈАБЕТЕС МЕЛИТУСА ТИП 1

Индуковане плурипотентне матичне ћелије (iPSCs), мултипотентне матичне ћелије добијене из људске пупчане крви (CB-SCs), хематопоетске матичне ћелије (HSCs) и мезенхималне матичне ћелије (MSCs) коришћене су за очување β ћелија путем заштите и регенерације острваца. Још једна значајна функција матичних ћелија је њихова способност да успоставе периферну толеранцију према β ћелијама кроз преобликовање имунског одговора, као и инхибицијом функције аутореактивних Т-ћелија. Уопштено, матичне ћелије могу повећати масу острваца диференцијацијом у β ћелијама сличне органоиде и обновити имунску толеранцију инхибицијом имунског одговора Т-ћелија и Т помоћничких ћелија путем TGF- β (енг. *tumor growth factor β*) и инфламаторних путева.⁵⁸⁵⁹

Истраживања спроведена током протекле деценије недвосмислено су показала да је најефикаснији начин за генерисање специфичних ћелијских типова из iPSCs у лабораторијским условима реконструкција ембрионалног развоја.⁶⁰ Овај приступ је показао успех, откривши да многи сигнални путеви и транскрипциони фактори регулишу ембрионални развој панкреаса. Међутим, због њихове високе потентности, усмеравање матичних ћелија ка стварању специфичног диферентованог ћелијског типа је тешко контролисати, те је било потребно више година истраживања да би се успело у усмеравању људских матичних ћелија ка функционалном β ћелијском фенотипу.⁶¹

Индукција ендодерма из плурипотентних ћелија, што представља први корак у процесу, истраживана је на моделима жабе, рибе и мишева, чиме су идентификовани молекуларни сигнали који подстичу диференцијацију у ендодерм, укључујући чланове TGF- β суперфамилије.⁶² Један од чланова TGF- β породице, активин-А, може сигнализирати путем сличних интрацелуларних путева као *Nodal*, али се лакше производи као рекомбинантни

⁵⁸ Tahbaz M, Yoshihara E. (2021) Immune Protection of Stem Cell-Derived Islet Cell Therapy for Treating Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)* 12:716625. doi: 10.3389/fendo.2021.716625

⁵⁹ Buron F, Reffet S, Badet L, Morelon E, Thaunat O. (2021) Immunological Monitoring in Beta Cell Replacement: Towards a Pathophysiology-Guided Implementation of Biomarkers. *Curr Diabetes Rep* 21(6):19. doi: 10.1007/s11892-021-01386-4

⁶⁰ Murry CE, Keller G. (2008). Differentiation of embryonic stem cells to clinically relevant populations: lessons from embryonic development. *Cell* 132: 661–680. doi:10.1016/j.cell.2008.02.008

⁶¹ Henry GL, Brivanlou IH, Kessler DS, Hemmati-Brivanlou A, Melton DA. (1996). TGF- β signals and a pattern in *Xenopus laevis* endodermal development. *Development* 122: 1007–1015.

⁶² Brennan J, Lu CC, Norris DP, Rodriguez TA, Beddington RS, Robertson EJ. (2001). Nodal signalling in the epiblast patterns the early mouse embryo. *Nature* 411: 965–969. doi:10.1038/35082103

протеин,⁶³ омогућавајући успостављање првог протокола за генерисање дефинитивног ендодерма *in vitro* из људских плурипотентних матичних ћелија.⁶⁴ Овај поступак је затим довео до трансформације ESC (енг. *embryonic stem cells*) у прогениторе који су након трансплантације у имунодефицијентне мишеве могли даље диференцирати у зреле ћелије панкреаса.⁶⁵ Један од главних изазова у напретку регенеративне медицине за дијабетес уз помоћ матичних ћелија био је стварање функционалних људских β ћелија *in vitro*. Ово је захтевало открића различитих индуктивних фактора и генетских маркера за *in vitro* диференцијацију матичних ћелија, што је постигнуто 2014. године развојем протокола који је омогућио производњу β ћелија деривираних из матичних ћелија, које су излучивале инсулин као одговор на сукцесивне гликемијске изазове *in vitro*.⁶⁶ Чињеница да су ове β -like ћелије одговориле на вишеструке стимулације глукозом излучивањем инсулина, слично примарним људским острвцима, показала је да је могуће произвести физиолошки функционалне ћелије потпуно *in vitro*, без сигнала из других мезенхимских ћелија и природног крвотока. Ово је отворило могућност производње острваца за даља физиолошка истраживања и испитивања лекова *in vitro*, као и за трансплантацију ради директног лечења болести.⁶⁷ Накнадне модификације протокола диференцијације значајно су унапредиле квалитет β -like ћелија генерисаних *in vitro*, прелазећи од полихормоналних ћелија које нису реаговале на глукозу до високог процента монохормоналних, β -like ћелија које стварају инсулин.⁶⁸ Заједнички основни принцип ових различитих протокола је да се милиони људских плурипотентних матичних ћелија, узгајаних у 3D кластерима, диференцирају поступно, излажући их различитим факторима раста и малим молекулима како би се активирали или инхибирали ембрионални сигнални путеви, као што су *Nodal*, *WNT*, *RA*, *FGF*, *BMP* и *Notch*. Већина протокола захтева између пет и седам фаза, које укупно трају 20-30 дана, како би се људске матичне ћелије трансформисале у β -сличне ћелије. Терминално диференциране ћелије

⁶³ Rankin SA, McCracken KW, Luedeke DM, Han L, Wells JM, Shannon JM, Zorn AM. (2018). Timing is everything: reiterative Wnt, BMP and RA signaling regulate developmental competence during endoderm organogenesis. *Dev Biol* 434: 121–132. doi:10.1016/j.ydbio.2017.11.018

⁶⁴ D'Amour KA, Agulnick AD, Eliazer S, Kelly OG, Kroon E, Baetge EE. (2005). Efficient differentiation of human embryonic stem cells to definitive endoderm. *Nat Biotechnol* 23: 1534–1541. doi:10.1038/nbt1163

⁶⁵ Kroon E, Martinson LA, Kadoya K, Bang AG, Kelly OG, Eliazer S, Young H, Richardson M, Smart NG, Cunningham J, et al. (2008). Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells in vivo. *Nat Biotechnol* 26: 443–452.

⁶⁶ Pagliuca FW, Millman JR, Gürtler M, Segel M, Van Dervort A, Ryu JH, Peterson QP, Greiner D, Melton DA. (2014). Generation of functional human pancreatic β cells in vitro. *Cell* 159: 428–439. doi:10.1016/j.cell.2014.09.040

⁶⁷ Veres A, Faust AL, Bushnell HL, Engquist EN, Kenty JH, Harb G, Poh YC, Sintov E, Gürtler M, Pagliuca FW, et al. (2019). Charting cellular identity during human *in vitro* β -cell differentiation. *Nature* 569: 368–373. doi:10.1038/s41586-019-1168-5

⁶⁸ Sharon N, Vanderhoof J, Straubhaar J, Mueller J, Chawla R, Zhou Q, Engquist EN, Trapnell C, Gifford DK, Melton DA. (2019). Wnt signaling separates the progenitor and endocrine compartments during pancreas development. *Cell Rep* 27: 2281–2291. e5. doi:10.1016/j.celrep.2019.04.083

задржавају свој идентитет током дужих периода у култури и могу успешно излечити дијабетес након трансплантације у животињским моделима.⁶⁹

Прве три фазе диференцијације стварају готово хомогену популацију (око 90%) панкреасних прогенитора који експримирају, већ поменути, главни транскрипциони фактор PDX1. Након тога, различите популације се идентификују бојењем за Ц-пептид (процесирани инсулин фрагмент), пан-ендокрини маркер CHGA и транскрипциони фактор β ћелија NKX6.1. Једноћелијска анализа различитих популација у SC острвцима идентификује три врсте ендокриних ћелија: SC β ћелије које експримирају β ћелијске маркере, укључујући INS и NKX6.1, α -like ћелије које експримирају GCG и ARX, и непанкреасне ендокрине ћелије које углавном подсећају на ендокрине ћелије црева. У финалним SC острвцима налазе се и преостале прогениторске ћелије које нису ендокрине. Поред β -like ћелија, ови протоколи такође генеришу α -like ћелије које могу допринети правилној функцији острваца након трансплантације. Нежељене ћелије, попут прогениторских ћелија које нису ендокрине, могу се смањити различитим методама реагломерације.⁷⁰⁷¹

Напредак у стварању неограниченог броја функционалних ћелија које луче инсулин из људских ESCs и iPSCs пружа највећу наду за трансплантациону терапију у лечењу T1DM. Штавише, способност генерисања функционалних β ћелија у великим количинама представља иновативни алат за проучавање механизма формирања и сазревања људских β ћелија, те успоставља платформу за моделирање болести *in vitro* и за скрининг лекова и молекула који би могли утицати на пролиферацију и/или функцију β ћелија, као и за идентификацију нових циљева у терапији дијабетеса.⁷²⁷³⁷⁴

Различити модели матичних ћелија коришћени су за успешну диференцијацију β ћелија *in vitro*, укључујући ембрионалне матичне ћелије, индуковане плурипотентне матичне ћелије, мезнехемалне матичне ћелије и прогениторске ћелије.

⁶⁹ Rosado-Olivieri EA, Anderson K, Kenty JH, Melton DA. (2019). YAP inhibition enhances the differentiation of functional stem cell-derived insulin-producing β cells. *Nat Commun* 10: 1464.doi:10.1038/s41467-019-09404-6

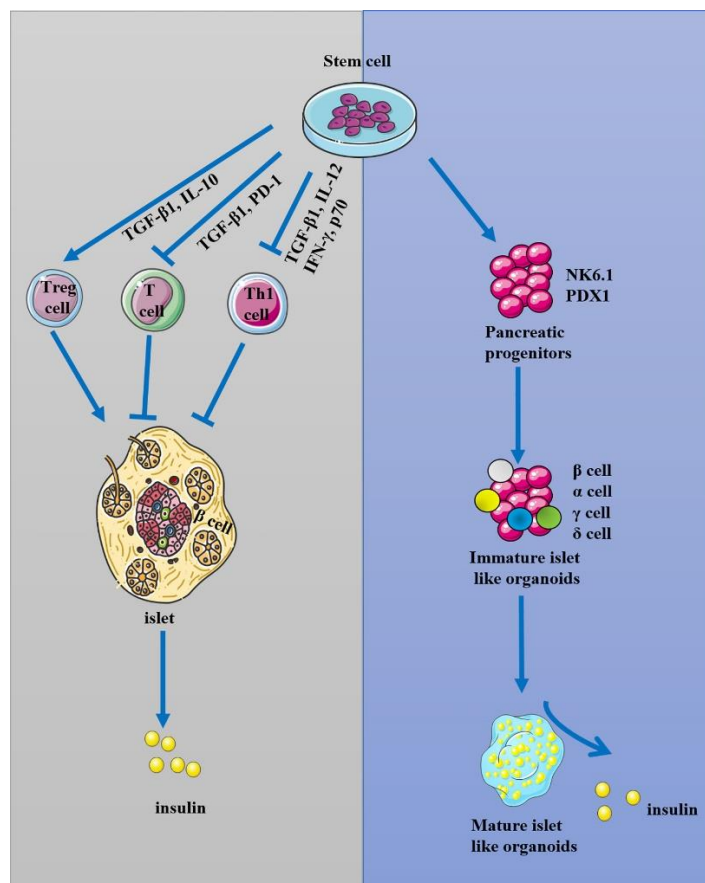
⁷⁰ Nair GG, Liu JS, Russ HA, Tran S, Saxton MS, Chen R, Juang C, Li ML, Nguyen VQ, Giacometti S, et al. (2019). Recapitulating endocrine cell clustering in culture promotes maturation of human stem-cell-derived β cells. *Nat Cell Biol* 21: 263–274.doi:10.1038/s41556-018-0271-4

⁷¹ Veres A, Faust AL, Bushnell HL, Engquist EN, Kenty JH, Harb G, Poh YC, Sintov E, Gürtler M, Pagliuca FW, et al. (2019). Charting cellular identity during human *in vitro* β -cell differentiation. *Nature* 569: 368–373.doi:10.1038/s41586-019-1168-5

⁷² Huch M, Koo BK. (2015). Modeling mouse and human development using organoid cultures. *Development* 142: 3113–3125.doi:10.1242/dev.118570

⁷³ Dutta D, Heo I, Clevers H. (2017). Disease modeling in stem cell-derived 3D organoid systems. *Trends Mol Med* 23: 393–410.doi:10.1016/j.molmed.2017.02.007

⁷⁴ Bakhti M, Böttcher A, Lickert H. (2019). Modelling the endocrine pancreas in health and disease. *Nat Rev Endocrinol* 15: 155–171.doi:10.1038/s41574-018-0132-z



Слика 2. Процес настанка инсулина од матичних ћелија

(Извор: <https://www.frontiersin.org/journals/endocrinology/articles/10.3389/fendo.2022.859638/full>)

3.1. Мезенхималне стем ћелије

Мезенхималне матичне ћелије (енг. *mesenchymal stem cells*- MSCs) се сматрају једним од „најпривлачнијих” извора ћелија за регенеративну медицину због својих вишеструких потенцијала, укључујући способности самопроширења, плурипотентности, ниске антигености, ниске токсичности, као и лакоћу у култивацији и пролиферацији *in vitro* како би се добиле довољне количине ћелија за терапију. Ове ћелије су присутне у различитим деловима тела, укључујући коштану срж, масно ткиво, амнионску течност, крв из пупчане врпце и плаценту.⁷⁵⁷⁶

Међународно друштво за ћелијску терапију је утврдило критеријуме за дефинисање MSCs. Као што је раније показано, популације MSCs се састоје од мултипотентних ћелија које се

⁷⁵ Chen PY, Huang LLH, Hsieh HJ. (2007). Hyaluronan preserves the proliferation and differentiation potentials of long-term cultured murine adipose-derived stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun.*;360:1–6. doi: 10.1016/j.bbrc.2007.04.211.

⁷⁶ Wong, T.Y., Chang, C.H., Yu, C.H., Huang, L.L.H., (2017). Hyaluronan keeps mesenchymal stem cells quiescent and maintains the differentiation potential over time. *Aging Cell.*;16:451–460. doi: 10.1111/ace1.12567.

могу адхезивно везати за пластику у култури; изражавају површинске маркере CD105, CD73 и CD90⁷⁷; не изражавају CD45, CD34, CD14, CD11b, CD79a или CD19 и HLADR површинске молекуле⁷⁸ и имају способност да се диференцирају у остеобласте, адипоците или хондроците.^{79,80} Такође је доказано да MSCs могу да се диференцирају у ћелије ендодермалних и ектодермалних линија (бубрежне тубуларне ћелије, ћелије епитела коже, неуроне, хепатоците и β ћелије панкреаса).⁸¹

MSCs се интензивно истражују у клиничким условима због њихових имуномодулаторних и регенеративних својстава, као и због њихове применљивости у контексту трансплантације панкреасних острваца. Доказано је да побољшавају прихватање панкреасних острваца потискивањем инфламаторних оштећења и имунолошки посредованим одбацивањем. Имуномодулаторна својства MSCs могу се остваривати кроз интеракције између ћелија и/или секрецијом растворљивих фактора.⁸²

Коштана срж је важан извор лако доступних одраслих матичних ћелија, а трансплантација коштане сржи се сматра ефикасном за лечење аутоимунског типа 1 дијабетеса. Међутим, постоји велика дебата о судбини трансплантованих матичних ћелија коштане сржи. Доказано је да ћелије добијене из коштане сржи миша могу да се диференцирају у ендокрине ћелије панкреаса са секрецијом инсулина зависном од глукозе и појачаном инкретином када су трансплантоване у мишеве који су били фатално озрачени. Коришћењем CRE-LoxP система, аутори су искључили догађаје фузије ћелија.⁸³ И даље постоје многе контроверзне опсервације. *Hess et al.*⁸⁴ известили су да трансплантација с-кит позитивних матичних ћелија коштане сржи миша покреће ендегену регенерацију панкреаса и побољшава ниво шећера у крви код мишева са дијабетесом изазваним стрептозотоцином, путем побољшане

⁷⁷ Solis MA, Wei Y-H, Chang C-H, Yu C-H, Kuo P-L, Huang LLH. (2016). Hyaluronan upregulates mitochondrial biogenesis and reduces adenosine triphosphate production for efficient mitochondrial function in slow-proliferating human mesenchymal stem cells. *Stem Cells.*;34:2512–2524. doi: 10.1002/stem.2404.

⁷⁸ Liu CM, Chang CH, Yu CH, Hsu CC, Huang L. (2009) Hyaluronan substratum induces multidrug resistance in human mesenchymal stem cells via CD44 signaling. *Cell Tissue Res.*;336:465–475. doi: 10.1007/s00441-009-0780-3.

⁷⁹ Wong TY, Chang CH, Yu CH, Huang LLH. Hyaluronan keeps mesenchymal stem cells quiescent and maintains the differentiation potential over time. *Aging Cell.* 2017;16:451–460. doi: 10.1111/acer.12567.

⁸⁰ Solis MA, Wei Y-H, Chang C-H, Yu C-H, Kuo P-L, Huang LLH. (2016). Hyaluronan upregulates mitochondrial biogenesis and reduces adenosine triphosphate production for efficient mitochondrial function in slow-proliferating human mesenchymal stem cells. *Stem Cells.*;34:2512–2524. doi: 10.1002/stem.2404

⁸¹ Jun H-S, Park E-Y. Adult stem cells as a renewable source of insulin-producing cells. *Int J Stem Cells.* (2009);2:115–121. doi: 10.15283/ijsc.2009.2.2.115.

⁸² Lu LL, Liu YJ, Yang SG, Zhao QJ, Wang X, Gong W, (2006) et al. Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials. *Haematologica.*;91:1017–1026.

⁸³ Ianus, Alexandru., Holz, Gerald G., Theise, Neil D., Hussain, Muhammad A., (2003), In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion, doi: 10.1172/JCI200317784.

⁸⁴ Hess, Daniel., Li, Lian., Martin, Michael., Sakano, Shinichi., Hill, Diane., Strutt, Bruce., Thyssen, Susan., Gray, Donald A., Bhatia, Mickie., (2003), Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration, doi: 10.1038/nbt849.

пролиферације ендотела помоћу донорских ћелија. У сличним студијама, *Lee et al.* показали су да трансплантоване MSCs из људске коштане сржи смањују ниво шећера у крви код имунодефицијентних мишева са дијабетесом, подстичући поправку панкреасних острваца миша.⁸⁵ У новије време, котрансплантација синогених ћелија коштане сржи и синогених или алогених MSCs код мишева са дијабетесом резултирала је брзим опоравком нивоа шећера у крви и инсулина у серуму, праћеном ефикасном регенерацијом ткива. Истраживачи су сугерисали да два аспекта делују паралелно и синергијски у овом моделу. Прво, и једне и друге ћелије подстичу регенерацију ћелија панкреаса које луче инсулин код примаоца. Друго, MSCs инхибирају имунолошке реакције Т-ћелија против новоформираних β ћелија. Њихов рад нуди нови потенцијални терапијски протокол за дијабетес типа 1.⁸⁶

Мултипотентне одрасле прогениторне ћелије (MAPCs) или MSCs унутар коштане сржи су интригантни кандидати који могу дати ћелије позитивне на инсулин. Године 2002, *Jiang et al.* изнели су идеју да постоје плурипотентне MSCs изведене из коштане сржи одрасле особе.⁸⁷ *Chen et al.* и *Wu et al.* изоловали су MSCs из коштане сржи пацова и успешно индуковали њихову диференцијацију у ћелије сличне острвцима.^{88,89} Штавише, трансплантација ових ћелија сличних острвцима могла је да ублажи хипергликемију код пацова са дијабетесом. Накнадно, група истраживача доказала је да третман екстрактом панкреаса пацова може диференцирати мезенхималне ћелије сржи пацова у ћелије које производе инсулин *in vitro*.⁹⁰ У другој студији, *Moriscot et al.* указују на то да се људске MSCs из коштане сржи могу диферентовати у ћелије које експримирају инсулин, инфекцијом аденовирусима који кодирају неколико фактора транскрипције пута развоја β ћелија и кокултуром са ткивом острваца или медијумом кондиционираним острвцима.⁹¹ Недавно су две студије представиле

⁸⁵ Lee, Ryan H., Seo, Mi Jin., Reger, Robert L., Spees, Jeffrey L., Pulin, Alexander A., Olson, Sharlene D., Prockop, Darwin J., (2006), Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/scid mice, doi: 10.1073/pnas.0608249103.

⁸⁶ Urbán, Viktória S., Kiss, János., Kovács, Judit., Góczy, Elvira., Vas, Viktória., Monostori, Éva., Uher, Ferenc., (2008), Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes, doi: 10.1634/stemcells.2007-0387.

⁸⁷ Jiang, Ying., Jahagirdar, Biju N., Reinhardt, Richard L., Schwartz, Robert E., Keene, Cynthia D., Ortiz-Gonzalez, Xavier R., Reyes, Manuel., Lenvik, Todd., Lund, Thomas., Blackstad, Mark., Du, Jie., Aldrich, Sheila., Lisberg, Ann., Low, William C., Largaespada, David A., Verfaillie, Catherine M., (2002), Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow, doi: 10.1038/418041a.

⁸⁸ Chen, Li Biao., Jiang, Xiao Bo., Yang, Li., (2004), Differentiation of rat marrow mesenchymal stem cells into pancreatic islet beta-cells, doi: 10.3748/wjg.v10.i20.3016.

⁸⁹ Wu, Xue Hui., Liu, Chen Ping., Xu, Kun Fu., Mao, Xiao Dong., Zhu, Jun., Jiang, Jie Jie., Cui, Dan., Zhang, Min., Xu, Yuan., Liu, Chuan., (2008), Reversal of hyperglycemia in diabetic rats by portal vein transplantation of islet like cells generated from bone marrow, doi: 10.3748/wjg.14.3342.

⁹⁰ Choi, Kyung Soo., Shin, Jung Sik., Lee, Ji Joon., Kim, Yun Suk., Kim, Sang Bong., Kim, Chul Woo., (2005), In vitro trans-differentiation of rat mesenchymal cells into insulin-producing cells by rat pancreatic extract, doi: 10.1016/j.bbrc.2005.03.124.

⁹¹ Moriscot, Claudine., De Fraipont, François., Richard, Marie J., Marchand, Michèle., Savatier, Philippe., Bosco, Dominique., Favrot, Marc., Benhamou, Pierre Yves., (2005), Human bone marrow mesenchymal stem cells can express

доказе да људске MSCs из коштане сржи, модификоване геном *homeobox 1* (PDX-1), могу бити индуковане да се диференцирају у функционалне ћелије које производе инсулин.^{92,93} Поред тога, *Sun et al.* доказали су да MSCs из коштане сржи пацијената са дијабетесом могу диференцирати у ћелије које производе инсулин под одговарајућим условима *in vitro*.⁹⁴

Имуномодулаторна својства MSCs могу бити посредована кроз интеракције између ћелија и/или лучење растворљивих фактора. Целуларни имунски одговор у MSCs изазива активацију Т ћелија и регрутацију леукоцита на инфламаторно место путем CD106. PDMSCs изоловане из хорионских чупица показале су присуство популације CD106+.⁹⁵

Поред својих имуномодулаторних ефеката, MSCs пружају подршку микроокружењу лучећи паракрине факторе и депонујући екстрацелуларни матрикс. Докази сугеришу супортивну улогу MSCs у регенерацији ендогених β ћелија. Истраживања су показала да се MSCs из мишева могу диферентовати *in vitro* у инсулин продукујуће ћелије и да те диференциране ћелије испољавају маркере специфичне за панкреас.⁹⁶

Кроз генетску манипулацију и обраду, прекомерна експресија PDX-1 у људским BM-MSCs (енг. *marrow-derived mesenchymal stem cells*) резултира диференцијацијом у инсулин продукујуће ћелије. Људски BM-MSCs одређени су са три гена, PDX-1, Neuro D и Ngn-3 и диференцирају се у ћелије које имају рецепторе за инсулин *in vitro*, али којима недостаје експресија инсулина која реагује на глукозу. Међутим, трансплантација ових диференцираних ћелија смањила је ниво шећера у крви код мишева са дијабетесом.⁹⁷

insulin and key transcription factors of the endocrine pancreas developmental pathway upon genetic and/or microenvironmental manipulation *in vitro*, doi: 10.1634/stemcells.2005-0052.

⁹² Li, Yu., Zhang, Rui., Qiao, Hui., Zhang, Hui., Wang, Yan., Yuan, Hong., Liu, Qiang., Liu, Dong., Chen, Li., Pei, Xiang., (2007), Generation of insulin-producing cells from PDX-1 gene-modified human mesenchymal stem cells, doi: 10.1002/jcp.20917.

⁹³ Karnieli, Orit., Izhar-Prato, Yael., Bulvik, Shlomo., Efrat, Shimon., (2007), Generation of insulin-producing cells from human bone marrow mesenchymal stem cells by genetic manipulation, doi: 10.1634/stemcells.2007-0217.

⁹⁴ Sun, Yu., Chen, Li., Hou, Xiao Gang., Hou, Wei Kun., Dong, Ji Ji., Sun, Lei., Tang, Kai Xing., Wang, Bing., Song, Jian., Li, Hui., Wang, Ke Xin., (2007), Differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells from diabetic patients into insulin-producing cells *in vitro*, doi: 10.1097/00029330-200704010-00002.

⁹⁵ Yang ZX, Han ZB, Ji YR, Wang YW, Liang L, Chi Y, et al. CD106 identifies a subpopulation of mesenchymal stem cells with unique immunomodulatory properties. PLoS ONE. 2013;8:e59354. doi: 10.1371/journal.pone.0059354.

⁹⁶ Tang D-Q, Cao L-Z, Burkhardt BR, Xia C-Q, Litherland SA, Atkinson MA, (2004) et al. In vivo and in vitro characterization of insulin-producing cells obtained from murine bone marrow. Diabetes.;53:1721–1732. doi: 10.2337/diabetes.53.7.1721.

⁹⁷ Karnieli O, Izhar-Prato Y, Bulvik S, Efrat S. (2007). Generation of insulin-producing cells from human bone marrow mesenchymal stem cells by genetic manipulation. Stem Cells.;25:2837–2844.

3.1.1. Матичне ћелије са пореклом ван коштане сржи

Раније становиште о MSC (енг. *mesenchymal stem cells*) као ћелијама строме коштане сржи је данас значајно промењено, и повремено коришћен термин „мезенхималне стромалне ћелије“ постао је споран. Уместо тога, постало је јасно да MSC унутар коштане сржи нису део везивног ткива строме, већ формирају ендостеалне и периваскуларне нише. Већина ВМ-МСС је периваскуларног порекла.⁹⁸

У кључној студији, Крисан и сарадници јасно су документовали да MSC фенотипови постоје и изван коштане сржи, у многим органима, као периваскуларни перицити, који изражавају типичне ВМ-МСС маркере, као што су CD146, NG2 и α -SMA, и поседују мултипотентност за остеогени, хондрогени, адипогени и миогени развој *in vitro*.⁹⁹ Даља функционална карактеризација тестирала је да ли ти перицити-МСС имају способност ВМ-МСС да обнове хематопоетску нишу код озрачених мишева. Студија је показала да CD146+ периваскуларне ћелије, изоловане из људског масног ткива, могу да подрже дуготрајну присутност трансплантираних људских хематопоетских стем ћелија, док CD146- периваскуларне ћелије нису имале ту способност. Ова запажања су јасно доказала да су ВМ-МСС и перицити са истим маркерима функционално еквивалентни.¹⁰⁰¹⁰¹¹⁰²

Разне студије су у међувремену показале да MSCS фенотипови могу бити изоловани из практично свих ткива тела, укључујући масно ткиво, мишиће, крв из пупчане врпце, Вартонове пихтије и плаценте. Ово је покренуло идеју да можда постоји јединствен MSCS фенотип али је постало очигледно да сви ти MSCS фенотипови, осим основних маркера, показују различите генске профиле у временском и ткивно-специфичном контексту, што утиче на њихову матичну способност. На пример, перицити из мишића нису спонтано остеохондрогени, док MSCS фенотипови из крви пупчане врпце показују јединствену способност да спонтано формирају хрскавицу *in vivo*. Такође, постоји доказ да механичка својства ванћелијског матрикса утичу на одлуке о судбини ћелија у MSCS, јер мекши

⁹⁸ Sacchetti, B., Funari, A., Michienzi, S., Di Cesare, S., Piersanti, S., Saggio, I., (2007) Self renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment. *Cell.*;131:324-36.

⁹⁹ Crisan, M., Yap, S., Casteilla, L., Chen, C.W., Corselli, M., Park, T.S., (2008). A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. *Cell stem cell.*;3:301-13.

¹⁰⁰ Corselli, M., Chin, C.J., Parekh, C., Sahaghian, A., Wang, W., Ge, S., (2013) Perivascular support of human hematopoietic stem/progenitor cells. *Blood.*121:2891-901.

¹⁰¹ Sacchetti, B., Funari, A., Remoli, C., Giannicola, G., Kogler, G., Liedtke, S., (2016) No Identical "Mesenchymal Stem Cells" at Different Times and Sites: Human Committed Progenitors of Distinct Origin and Differentiation Potential Are Incorporated as Adventitial Cells in Microvessels. *Stem cell reports.*;6:897-913.

¹⁰² Engler, A.J., Sen, S., Sweeney, H.L., Discher, D.E., (2006) Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell.*;126:677-89.

матрикси који имитирају мишић су миогени, док ригидни матрикси који имитирају колагено ткиво кости подстичу остеогену диференцијацију.¹⁰³

Генерално, ово указује на то да је мезенхимална потентност MSC прилагођена или обликована микросредином ткива, те да MSC из плаценте, Вартонове пихтије и крви пупчане врпце могу показивати фенотип најсличнији ембрионалним ћелијама. MSCs добијене из пупчаника (енг. *umbilical cord-derived mesenchymal stem cells*- UC-MSCs), када су култивисане са ћелијском линијом хепатома, ефикасно су ублажили инсулин резистенцију изазвану палмитинском киселином и липополисахаридима блокажем активације NLRP3 и инфламаторних агенаса.¹⁰⁴

Када су UC-MSCs убачени у пацове са дијабетесом типа 2, хипергликемија је значајно снижена, а инфламаторна активност је смањена, што је резултирало побољшањем осетљивости на инсулин у ткивима осетљивим на инсулин. Слично томе, инфузија MSCs изолованих из масног ткива (енг- *adipose-derived mesenchymal stem cells*- AD-MSCs) у дијабетичке NOD мишеве је снизила хипергликемију повећањем нивоа инсулина, амилина и пептида сличног глукагону 1 у серуму у поређењу са нелечима контролним групама. AD-MSC третман је такође смањио CD4+ Т помоћничке (Th) 1 ћелије, интерферон- γ и инфилтрацију инфламаторних ћелија. Администрација екстрацелуларних везикула изведених из MSCs костне сржи у мишевима резултирала је инхибицијом активације ћелија које презентују антигене и супресијом развоја Th1 и Th17 ћелија, чиме је спречен почетак дијабетеса типа 1.¹⁰⁵¹⁰⁶

У последњих неколико година, UC-MSCs су стекле значај у регенеративној медицини због бројних карактеристика, укључујући безбедно прикупљање, значајну наивност, значајан регенеративни потенцијал, малтене непостојање ризика за донора и мање строге захтеве за HLA подударање уз лакши приступ ретким хаплотиповима. Више од 20000 UC-MSC трансплантација је изведено широм света.¹⁰⁷ Не само да је демонстрирано генерисање ћелија

¹⁰³ Mushahary, D., Spittler, A., Kasper, C., Weber, V., Charwat, V., (2018) Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells. *Cytometry Part A : the journal of the International Society for Analytical Cytology.*;93:19-31.

¹⁰⁴ Sun X, Hao H, Han Q, Song X, Liu J, Dong L, (2017). et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells ameliorate insulin resistance by suppressing NLRP3 inflammasome-mediated inflammation in type 2 diabetes rats. *Stem Cell Res Ther.*;8:241. doi: 10.1186/s13287-017-0668-1.

¹⁰⁵ Corradi-Perini C, Santos TM, Camara NOS, Riella MC, Aita CAM. (2017). Co-transplantation of xenogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells alleviates rejection of pancreatic islets in non-obese diabetic mice. *Transplant Proc.*;49:902–905. doi: 10.1016/j.transproceed.2017.01.064.

¹⁰⁶ Yang XF, Chen T, Ren LW, Yang L, Qi H, Li FR. (2017). Immunogenicity of insulin-producing cells derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Exp Ther Med.*;13:1456–1464. doi: 10.3892/etm.2017.4096.

¹⁰⁷ Mayani, H., (2011) Umbilical cord blood: Lessons learned and lingering challenges after more than 20 years of basic and clinical research. *Arch Med Res*;42:645–651.

које производе инсулин као одговор на глукозу из UCB-MSCs , већ је постигнута и *in vitro* диференцијација ћелија које производе инсулин из похрањених "криопрезервисаних" UCB-MSCs.¹⁰⁸ Најимпресивнија је недавна отворена студија фазе I/фазе II, која користи технику познату као "терапија едукатора матичних ћелија" и која је дефинитивно показала ефикасност hUCB-SCs у истовременој реверзији аутоимуности путем системске и локалне имуномодулације и промовисању регенерације β ћелија острваца.¹⁰⁹ Тренутно је у току неколико активних клиничких испитивања која имају за циљ да утврде сигурност и ефикасност аутологних hUCB-MSCs у лечењу недавно дијагностикованих и очигледно дијабетичних пацијената. Иако је потребно дугорочно праћење да би се позитивно потврдио њихов терапеутски потенцијал, за сада се чини да су hUCB-MSCs најперспективнији кандидат у терапијама матичним ћелијама за лечење T1DM. Други важан, неинвазиван и обилан извор MSCs је матрикс пупчане врпце, погодна алтернатива hUCB због једноставности прикупљања знатно великог броја MSCs из овог извора за рутинску клиничку употребу.¹¹⁰

PDMSCs (енг. *placenta-derived multipotent stem cells*) луче растворљиве факторе који посредују имунопресивне функције, укључујући инхибицију пролиферације лимфоцита путем TGF- β 1, HGF, PGE2 и IL-1 β , као и инхибицију диференцијације моноцита у макрофаге или дендритске ћелије путем IL-6, IL-10 и фактора за стимулацију колонија макрофага.¹¹¹

MSCs з људске коштане сржи и масног ткива представљају веома сличне популације ћелија са упоредивим фенотиповима. Дакле, MSCs са потенцијалом да усвоје ендокрини фенотип панкреаса би могле постојати и у људском масном ткиву . Матичне ћелије добијене из адипозног ткива (ADSCs) представљају обећавајући извор у терапији T1DM због њихове способности да се диференцирају у различите типове ћелија, укључујући ћелије које луче инсулин. Ове ћелије имају неколико предности у односу на друге изворе матичних ћелија. ADSCs су лакше доступне, процес добијања је мање инвазиван и не изазива непријатности за пацијенте, што их чини изузетно погодним за клиничку примену. Једна од кључних предности ADSCs је њихова способност да се диференцирају у ћелије које реагују на глукозу и производе инсулин, што је кључно за потенцијалну примену у терапији T1DM. Експерименталне студије показале су да терапија ADSCs може значајно допринети

¹⁰⁸ Phuc, P.V., Nhung, T.H., Loan, D.T., (2011) Differentiating of banked human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells into insulin-secreting cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*;47:54–63.

¹⁰⁹ Zhao, Y., Jiang, Z., Zhao, T., (2012) Reversal of type 1 diabetes via islet β cell regeneration following immune modulation by cord blood-derived multipotent stem cells. *BMC Med* ;10:3.

¹¹⁰ Hu, J., Yu, X., Wang, Z., (2012) Long term effects of the implantation of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells from the umbilical cord for newly onset type 1 diabetes mellitus.

¹¹¹ Abumaree MH, Abomaray FM, Alshabibi MA, AlAskar AS, Kalionis B. (2017). Immunomodulatory properties of human placental mesenchymal stem/stromal cells. *Placenta*;59:87–95. doi: 10.1016/j.placenta.2017.04.003.

регенерацији оштећених β ћелија панкреаса, побољшавајући функционалност панкреаса и омогућавајући контролу гликемије.¹¹²

У студијама на животињским моделима, ADSCs су се диференцирале у инсулин-продукујуће ћелије након трансплантације, смањујући нивое глукозе у крви и побољшавајући функционалну регенерацију панкреаса. Поред тога, ADSCs поседују способност секреције различитих фактора раста, укључујући ангиогене, антиапоптоичне и антиинфламаторне факторе, што додатно доприноси репаративним процесима и обнављању ткива. Ове карактеристике чине ADSCs идеалним кандидатом за регенеративне терапије код T1DM посебно у комбинацији са имуносупресивним ефектима који могу помоћи у контроли аутоимунског одговора на β ћелије.¹¹³

У клиничком контексту, ADSCs су већ коришћене у отвореним клиничким студијама које су истраживале њихову ефикасност у трансплантацији као део терапије за T1DM. Резултати су показали да комбинација ADSCs и ћелија коштане сржи може допринети смањењу потребе за егзогеним инсулином, док су се нивои Ц-пептида, као маркер функционалних β ћелија, значајно повећали код пацијената који су примили терапију. Даље студије су у току како би се утврдила дугорочна ефикасност и сигурност ових терапија.¹¹⁴

Иако су потребне додатне студије како би се прецизно дефинисали механизми диференцијације и имуносупресивне способности ADSCs, тренутни резултати јасно показују да су ADSCs једна од најперспективнијих опција за регенеративну терапију дијабетес мелитуса типа 1.¹¹⁵

Мезенхималне матичне ћелије су коришћене у клиничким испитивањима на људима, показујући да трансплантација матичних ћелија има повољне ефекте на T1DM. У отвореној, нерандомизованој, паралелној, проспективној студији, *Lu et al.* су укључили 53 учесника, од којих је 33 имало дијабетес типа 1 са почетком у одраслом добу (≥ 18 година), а 20 са почетком у детињству. Резултати су показали да је интравенска доза алогених MSCs из пупчане врпце била безбедна код особа са новодијагностикованим T1DM након 12 месеци

¹¹² Timper, Kurt., Seboek, Daniel., Eberhardt, Mathias., Linscheid, Patrick., Christ-Crain, Mirjam., Keller, Ulrich., Müller, Beat., Zulewski, Henry., (2006), Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiate into insulin, somatostatin, and glucagon expressing cells, doi: 10.1016/j.bbrc.2006.01.118.

¹¹³ Crisan, M., Yap, S., Casteilla, L., Chen, C. W., Corselli, M., Park, T. S., Andriolo, G., Sun, B., Zheng, B., Zhang, L., Norotte, C., Teng, P. N., Traas, J., Schugar, R., Deasy, B. M., Badylak, S., Péault, B., & Rubin, J. P. (2008). A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. *Cell Stem Cell*, 3(3), 301-313.

¹¹⁴ Sun, B., Roh, K. H., Park, J. R., Lee, S. R., Park, S. B., Jung, J. W., Kang, S. K., & Kang, K. S. (2017). Stem cell therapy for diabetes mellitus using umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells: In vitro and preclinical studies. *Stem Cells and Development*, 26(8), 565-577.

¹¹⁵ Hess, D., Li, L., Martin, M., Sakano, S., Hill, D., Strutt, B., Thyssen, S., Gray, D. A., & Bhatia, M. (2003). Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration. *Nature Biotechnology*, 21(7), 763-770.

праћења, што је вероватно довело до боље заштите β ћелија острваца у поређењу са стандардним третманом током прве године након дијагнозе.¹¹⁶ *Kai et al.* су доказали да је трансплантација MSCs из пупчане врпце такође безбедна и повезана са умереним побољшањем метаболичких параметара код пацијената са успостављеним T1DM. Друго клиничко испитивање је показало да ињекција MSCs кроз пункцију јетре може успешно смањити нивое инсулина, ћелија острваца и антитела на глутаминску киселину декарбоксилазу (GAD) код два пацијента у року од 1 године, уз смањење концентрације глукозе у крви и HbA1c, као и повећање концентрације C-пептида, што указује на имунорегулацију и толеранцију ћелија.¹¹⁷

3.2. Хематопоеетске матичне ћелије

Концепт хематопоеетских матичних ћелија (енг. *hematopoietic stem cells*- HSCs) настао је 1950-их година открићем да интравенски убризгане ћелије коштане сржи могу спасити озрачене мишеве од смртности обнављањем производње крвних ћелија. Показано је да се може управљати експанзијом и карактеристикама самообнављања хематопоеетског компартмента, док се одржава способност диференцијације у HSCs.¹¹⁸ Периферне хематопоеетске матичне ћелије мобилизоване су циклофосфамидом и факторима стимулације гранулоцитних колонија. У овој студији, леукофереза, која користи сепаратор крвних ћелија са континуираним протоком, започета је када је број CD34+ ћелија достигао 10 ћелија/ μ l. Лукфереза је настављена свакодневно док број сакупљених прогениторских ћелија није достигао минимум од $3,0 \times 10^6$ CD34+ ћелија/kg телесне тежине. Необрађене матичне ћелије периферне крви замрзнуте су у 10% диметил сулфоксиду у замрзивачу са контролисаном брзином и ускладиштене у парној фази течног азота.¹¹⁹ Затим су прикупљене ћелије убризгане интравенски. HSCs су се показале као безбедне код људи и нашироко су коришћене као ефикасан третман за хематолошке малигнитете, а у лечењу дијабетеса користе се јер имају способност да супримирају функцију имунског система¹²⁰

¹¹⁶ Lu J, Shen SM, Ling Q, Wang B, Li LR, Zhang W, (2021) et al.. One Repeated Transplantation of Allogeneic Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cells in Type 1 Diabetes: An Open Parallel Controlled Clinical Study. *Stem Cell Res Ther* 12(1):340.

¹¹⁷ Mesples A, Majeed N, Zhang Y, Hu X. (2013) Early Immunotherapy Using Autologous Adult Stem Cells Reversed the Effect of Anti-Pancreatic Islets in Recently Diagnosed Type 1 Diabetes Mellitus: Preliminary Results. *Med Sci Monit* (2013) 19:852–7.

¹¹⁸ Eaves CJ. (2015) Hematopoietic Stem Cells: Concepts, Definitions, and the New Reality. *Blood* 125(17):2605–13.

¹¹⁹ Voltarelli JC, Couri CE, Stracieri AB, Oliveira MC, Moraes DA, Pieroni F, (2007) et al.. Autologous Nonmyeloablative Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Newly Diagnosed Type 1 Diabetes Mellitus. *JAMA* 297(14):1568–76.

¹²⁰ Copelan EA. (2006) Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *N Engl J Med* 354(17):1813–26.

Пацијенти са недавно дијагностикованим T1DM успешно су враћени у еугликемију трансплантацијом аутологних хематопоетских матичних и прогениторских ћелија (AHSCT), док је модулација аутологних хематопоетских матичних и прогениторских ћелија (HSPCs) простгландинима (PGs) *in vitro* побољшала њихове имунорегулационе особине повећањем експресије молекула за сигнализацију имунолошког контролног пункта PD-L1.¹²¹ Венг и сарадници су показали нижи проценат пролиферишућих Т конвенционалних ћелија (Tcon) и већи апсолутни број и проценат Т регулаторних ћелија у лимфним чворовима панкреаса код отпорних мишева међу млађим примаоцима у поређењу са бржим прогресорима међу старијим примаоцима. Старији NOD мишеви брже су напредовали до крајње фазе дијабетеса.¹²² Иако мешани химеризам са трансплантатима коштане сржи (BM) MHC-подударног неаутоимунског донора није спречио дијабетес типа 1 у NOD моделима мишева, индукција било мешаног или потпуног химеризма са MHC-неподударним BM трансплантантима инхибирала је T1DM истих мишева¹²³. Ово је огрничило транслационе примене HSCs за преобликовање аутоимунског одговора путем мијелоаблативних агенаса/приступа. Генетски модификоване HSC су коришћене да би се превазишао овај недостатак. *Ex-vivo* генетска манипулација NOD HSC за кодирање проинсулина и трансгенско циљање могла је успешно да спречи појаву T1DM.¹²⁴ Претпоставка је да повећани ниво CXCL12 (SDF-1) у HSCs, добијених из коштане сржи NOD мишева, мења транспорт HSCs и периферних дендритских ћелија, што погодује појави T1DM.¹²⁵

3.3. Ембрионалне и индуковане плурипотентне матичне ћелије

Ембрионалне (енг. *embryonic stem cells*- ESCs) и индуковане плурипотентне матичне ћелије (енг. *induced pluripotent stem cells*- iPSCs) су плурипотентне матичне ћелије које имају способност регенерације β ћелија панкреаса и имунолошких ћелија путем диференцијације, што помаже у повећању масе β ћелија.

¹²¹ Ben Nasr M, D'Addio F, Malvandi AM, Faravelli S, Castillo-Leon E, Usulli V, (2018) et al.. Prostaglandin E2 Stimulates the Expansion of Regulatory Hematopoietic Stem and Progenitor Cells in Type 1 Diabetes. *Front Immunol* 9:1387.

¹²² Wang N, Rajasekaran N, Hou T, Macaubas C, Mellins ED. (2015) Immunological Basis for Rapid Progression of Diabetes in Older NOD Mouse Recipients Post BM-HSC Transplantation. *PloS One* 10(5):e0128494.

¹²³ Racine J, Wang M, Zhang C, Lin CL, Liu H, Todorov I, (2011) et al.. Induction of Mixed Chimerism With MHC-Mismatched But Not Matched Bone Marrow Transplants Results in Thymic Deletion of Host-Type Autoreactive T-Cells in NOD Mice. *Diabetes* 60(2):555–64.

¹²⁴ Chan J, Clements W, Field J, Nasa Z, Lock P, Yap F, (2006) et al.. Transplantation of Bone Marrow Genetically Engineered to Express Proinsulin II Protects Against Autoimmune Insulinitis in NOD Mice. *J Gene Med* 8(11):1281–90.

¹²⁵ Leng Q, Nie Y, Zou Y, Chen J. (2008) Elevated CXCL12 Expression in the Bone Marrow of NOD Mice Is Associated With Altered T Cell and Stem Cell Trafficking and Diabetes Development. *BMC Immunol* 9:51.

D'Amour et al. су први доказали да се β ћелије добијене из ESC могу успешно генерисати кроз *in vitro* реконструкцију панкреасних острваца и физиолошки развој β ћелија применом специфичних фактора у неколико корака.¹²⁶

Најбољи модел за студије регенерације панкреаса постигнут је коришћењем ESC. Трансгена експресија PDX-1 и NKX6.1 доказала је да може да индукује диференцијацију ESCs у ендокрине ћелије које су позитивне на експресију инсулина, соматостатина и глукагона. Фактори раста и екстрацелуларног матрикса, укључујући ламинин, никотинамид и инсулин, доводе до формирања ћелијских кластера налик острвцима, изведених из ESCs, које су позитивне на Ц-пептид/инсулин и ослобађају инсулин као одговор на стимулацију глукозом, а истовремено експримирају Pax4. Ретиноична киселина игра важну улогу у развоју панкреаса и широко се користи за индуковање панкреасне диференцијације ESCs. Када се ретиноична киселина директно дода индукованим људским ESCs које експримирају CXCR4, 95% ћелија постаје позитивно на панкреасни маркер PDX-1.¹²⁷ iPSCs репрограмирани из соматских ћелија, имају сличну способност диференцијације и пролиферације као ESCs. iPSCs прикупљене из пупчане врпце при рођењу имају потенцијал за самообнављање и могу се диференцирати у различите линије, укључујући острвца панкреаса. Због тога, iPSCs пружају обећавајућу платформу за производњу ћелија које луче инсулин *in vitro*. Међутим, употреба ESCs и iPSCs је ограничена због законских регулатива у многим земљама, па је клиничко истраживање ових ћелија минимално.¹²⁸

Трансплатација ESCs или iPSCs код T1DM може регенерисати β ћелије панкреаса и повећати масу β ћелија путем диференцијације у ћелије које производе инсулин (IPCs), панкреасне прогениторе, органе острваца и интерспецифичне панкреасне химере, што може побољшати лечење T1DM. Резаниа и сарадници су култивисали iPSCs које изражавају кључне маркере зрелих β ћелија, као што су инсулин *in vitro* и добили ћелије које имају функционалне сличности са људским острвцима; iPSCs су брзо преокренуле хипергликемију код мишева са дијабетесом изазваним стрептозотоцином (STZ) повећањем нивоа инсулина и С-пептида када су трансплантиране *in vivo*.¹²⁹ iPSCs се могу генерисати из фибробласта коже пацијената са T1DM. Ове iPSCs могу се диферентовати у панкреасне ћелијске линије и генерисати SC β

¹²⁶ Loretelli C, Assi E, Seelam AJ, Ben Nasr M, Fiorina P. (2020) Cell Therapy for Type 1 Diabetes. *Expert Opin Biol Ther* 20(8):887–97. doi: 10.1080/14712598.2020.1748596

¹²⁷ Cai J, Yu C, Liu Y, Chen S, Guo Y, Yong J, (2010). et al. Generation of homogeneous PDX1+ pancreatic progenitors from human ES cell-derived endoderm cells. *J Mol Cell Biol.*;2:50–60. doi: 10.1093/jmcb/mjp037.

¹²⁸ Francese R, Fiorina P. (2010) Immunological and Regenerative Properties of Cord Blood Stem Cells. *Clin Immunol* 136(3):309–22. doi: 10.1016/j.clim.2010.04.010

¹²⁹ Rezania A, Bruin JE, Arora P, Rubin A, Batushansky I, Asadi A, (2014) et al.. Reversal of Diabetes With Insulin-Producing Cells Derived In Vitro From Human Pluripotent Stem Cells. *Nat Biotechnol* 32(11):1121–33. doi: 10.1038/nbt.3033

ћелија, што омогућава аутологну трансплантацију панкреасних прогенитора изведених из матичних ћелија за лечење T1DM.¹³⁰ *Korytnikov et Nostro* су успешно изоловали hPSCs у лабораторији, а затим их трансплантовали у моделе мишева како би пратили њихов развојни потенцијал *in vivo* и тада су открили да мишеви којима су трансплантоване са мултипотентним панкреасним прогениторима могу формирати све панкреасне линије *in vivo*.¹³¹ Надав и сарадници су користили РНК секвенцирање диференцирајућих β ћелија и открили да се ESC диференцијација ка фенотипу зрелих β ћелија може пратити у свакој фази праћењем изражавања маркера који идентификују сваки интермедијарни прогенитор, као што су β ћелијски маркер инсулин, ендокрини прекурсорски маркер неурогенин 3, NKX6.1 и PDX-1.

Такође су доказали да инхибиција WNT сигналног пута и активација протеина за морфогенезу костију могу модулисати однос прогенитора и ендокриних ћелија, што указује на могућу мету за генску модификацију при диференцијацији ESCs ка зрелим β ћелијама.¹³² Важно је напоменути да је употреба ових ћелија ограничена због етичких питања и регулатива у многим земљама.

3.4. Прогениторске ћелије панкреаса

Идентификација прогениторних ћелија у панкреасу одраслих особа привлачи све већу пажњу због њихових карактеристика панкреасне лозе које им омогућавају да генеришу нове функционалне β ћелије. Када су прогениторске ћелије панкреаса индуковане да се диференцирају у острвца *in vitro* и трансплантоване у мишеве са индукованим дијабетесом, прогениторне ћелије су директно мигрирале у повређени панкреас, брзо се диференцирајући у IPC и смањујући ниво глукозе ка нормогликемији.¹³³

Недавна студија је показала да прогениторне ћелије које експримирају неурогенин-3, који је изражен на веома ниским нивоима у нормалним постнаталним панкреасним ткивима, постоје у каналима панкреаса одраслих мишева. Ектопична експресија неурогенин-3 у панкреасним дукталним ћелијама их је претворила у IPC, а третман људских дукталних и ацинарних

¹³⁰ Maehr R, Chen S, Snitow M, Ludwig T, Yagasaki L, Golland R, (2009) et al.. Generation of Pluripotent Stem Cells From Patients With Type 1 Diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 106(37):15768–73. doi: 10.1073/pnas.0906894106

¹³¹ Korytnikov R, Nostro MC. (2016) Generation of Polyhormonal and Multipotent Pancreatic Progenitor Lineages From Human Pluripotent Stem Cells. *Methods* 101:56–64. doi: 10.1016/j.ymeth.2015.10.017

¹³² Zhu C, Ishikami S, Wang P, Zhao H, Li H. (2019) Optimal Design and Fabrication of Multichannel Helical Long-Period Fiber Gratings Based on Phase-Only Sampling Method. *Opt Express* 27(3):2281–91. doi: 10.1364/OE.27.002281

¹³³ Srivastava A, Dadheech N, Vakani M, Gupta S. (2018) Pancreatic resident endocrine progenitors demonstrate high islet neogenic fidelity and committed homing towards diabetic mice pancreas. *J Cell Physiol*. doi: 10.1002/jcp.27568.

ћелија комбинацијом епидермалног фактора раста и гастрина индуцирао је неогенезу β ћелија из канала, повећавајући функционалну масу β ћелија.¹³⁴

У другим студијама, котрансплантација прочишћених људских неендокриних панкреасних епителних ћелија са људским феталним панкреасним ткивом испод бубрежне капсуле имунодефицијентних мишева резултирала је њиховом диференцијацијом у ендокрине ћелије. Чини се да феталне ћелије пружају факторе који подржавају преживљавање и диференцијацију епителних ћелија. Такође су показане ћелије сличне матичним ћелијама, са способношћу ширења и формирања клонова *ex vivo*. Ове ћелије имају способност пролиферације и формирања ћелијских агрегата који показују способност за ендокрину и егзокрину диференцијацију. Ови резултати сугеришу да матичне/прогениторне ћелије постоје унутар панкреаса и да ове ћелије могу бити извор нових острваца. Међутим, идентификација специфичних маркера је хитно потребна за изолацију ових ћелијских популација.¹³⁵

Трансплантација панкреасних ћелија добијених из матичних ћелија представља обећавајући приступ за лечење T1DM. Различити типови ћелија добијених из матичних ћелија, као што су прогениторске ћелије панкреаса и ћелије које луче инсулин, предложени су за трансплантацију у дијабетичне моделе.

Током диференцијације ендокриних прогенитора, они се кохезивно крећу и формирају структуре налик пупољцима, које су прекурсори острваца. Све више доказа указује на то да правилна регулација глукозе захтева координацију између различитих типова ћелија острваца, што сугерише да би било корисније производити читаво острвца *in vitro*, уместо диференцирања ћелија у специфичне типове. Недавна студија је показала могућност добијања прекурсора острваца из ембрионалних матичних ћелија, предлажући овај модел као оптималан за добијање целих популација острваца.¹³⁶

Када се подвргну процесу сазревања *in vivo*, трансплантиране прогениторске ћелије панкреаса производе ћелије које луче инсулин, што спречава или преокреће ток дијабетеса након трансплантације. Трансплантација прогениторских ћелија панкреаса добијених из

¹³⁴ Rooman I, Bouwens L. (2004) Combined gastrin and epidermal growth factor treatment induces islet regeneration and restores normoglycaemia in C57Bl6/J mice treated with alloxan. *Diabetologia*.;47:259–265. doi: 10.1007/s00125-003-1287-1.

¹³⁵ Rovira M, Scott SG, Liss AS, Jensen J, Thayer SP, Leach SD. (2010) Isolation and characterization of centroacinar/terminal ductal progenitor cells in adult mouse pancreas. *Proc Natl Acad Sci USA*.;107:75–80. doi: 10.1073/pnas.0912589107.

¹³⁶ Sharon N, Chawla R, Mueller J, Vanderhooft J, Whitehorn LJ, Rosenthal B, (2019) et al. A Peninsular structure coordinates asynchronous differentiation with morphogenesis to generate pancreatic islets. *Cell*.;176:790–804. doi: 10.1016/j.cell.2018.12.003.

матичних ћелија на скафолде који ослобађају егзенин-4, показала је да промовише усађивање ових ћелија и њихово сазревање у β ћелије које производе инсулин, значајно повећавајући нивое С-пептида и смањујући ниво глукозе у крви код мишева са дијабетесом изазваним стрептозотоцином.¹³⁷

Хронична хипергликемија и имунодефицијентно окружење убрзавају сазревање трансплантованих прогениторских ћелија под бубрежном капсулом код мишева.

Контакт између прогениторских ћелија панкреаса пре трансплантације је кључан за њихово сазревање у ћелије које производе инсулин *in vivo*. Ипак, сазревање *in vivo* остаје критичан проблем који треба решити.¹³⁸ Очекује се да би зреле ендокрине ћелије генерисане *in vitro* могле брже преокренути дијабетес него прогениторске ћелије панкреаса након трансплантације. Развој нових техника за *in vitro* диференцијацију могао би ефикасно да усмери прогениторске ћелије даље на путу развоја у β ћелије. Коришћење TMP269, инхибитора хистона, у ћелијама сличним ендокриним прекурзорима добијених из матичних ћелија из Вартонове пихтије повећава диференцијацију ка IPCs. Ово се манифестује кроз повећану експресију гена повезаних са PAX4, β ћелијама, као и повећану секрецију инсулина на крају процеса сазревања.¹³⁹ Такође, пријављен је побољшан протокол диференцијације iPSCs који омогућава генерисање популација са више од 60% ћелија које експримирају инсулин. Ове ћелије реагују на глукозу и могу преокренути дијабетес код глодара.¹⁴⁰

In vitro администрација GLP-1 и његовог нативног облика perGLP-1 стимулише диференцијацију прекурсора β ћелија изолованих из мишева са дијабетесом у инсулин-производеће β ћелије. Pref-1 учествује у пролиферацији и диференцијацији различитих прекурсорских ћелија. Прекомерна експресија Pref-1 активира MAPK/AKT сигнализацију, што индукује диференцијацију људских панкреасних дукталних ћелија у β ћелије са повећаном синтезом и секрецијом инсулина. Ово побољшава хомеостазу глукозе убрзавањем

¹³⁷ Kasputis T, Clough D, Noto F, Rychel K, Dye B, Shea LD. (2018) Microporous polymer scaffolds for the transplantation of embryonic stem cell derived pancreatic progenitors to a clinically translatable site for the treatment of type 1 diabetes. ACS Biomater Sci Eng.;4:1770–1778.

¹³⁸ Beattie GM, Rubin JS, Mally MI, Otonkoski T, Hayek A. (1996) Regulation of proliferation and differentiation of human fetal pancreatic islet cells by extracellular matrix, hepatocyte growth factor, and cell-cell contact. Diabetes.;45:1223–1228. doi: 10.2337/diab.45.9.1223.

¹³⁹ Belame Shivakumar S, Bharti D, Baregundi Subbarao R, Park J-M, Son Y-B, Ullah I, (2019). et al. Pancreatic endocrine-like cells differentiated from human umbilical cords Wharton's jelly mesenchymal stem cells using small molecules. J Cell Physiol.;234:3933–3947. doi: 10.1002/jcp.27184.

¹⁴⁰ Skurikhin EG, Pakhomova AV, Epanchintsev AA, Stronin OV, Ermakova NN, Pershina OV, (2018). et al. Role of β cell precursors in the regeneration of insulin-producing pancreatic β cells under the influence of glucagon-like peptide 1. Bull Exp Biol Med.;165:644–648. doi: 10.1007/s10517-018-4232-5.

регенерације дукталних и β ћелија након повреде код дијабетичног модела са уклоњеним панкреасом.¹⁴¹

Када су изоловане ћелије сличне MSCs из панкреаса одраслих мишева биле изложене медијуму за диференцијацију у ћелије острваца, примећено је значајно повећање панкреасних маркера, као што су Nkx2.2, Nkx6.1, Pdx1, инсулин и соматостатин, праћено повећаном секрецијом инсулина након излагања глукози. Слично, инкубација људских ћелија из панкреаса са зрелим β ћелијама резултирала је диференцијацијом у зреле β ћелије.

Ове индуковане ћелије су стекле карактеристике зрелих ћелија, укључујући повећану експресију глукозног транспортера-2, секрецију инсулина као одговор на глукозу *in vitro*, и исправиле хипергликемију *in vivo* када су биле котрансплантиране са васкуларним ћелијама.¹⁴²

Студије су такође показале имунопрофилактичке ефекте прекурсорских ћелија на IPCs. Култура MSCs у медијуму са високом концентрацијом глукозе резултирала је генерисањем прекурсора β ћелија са способношћу даље диференцијације у зреле IPCs. Диференцијација прекурсора у IPCs ефикасније зауставља аутоимунски одговор код типа 1 дијабетеса када се примени пре почетка болести код NOD мишева у поређењу са диференцираним IPCs.¹⁴³

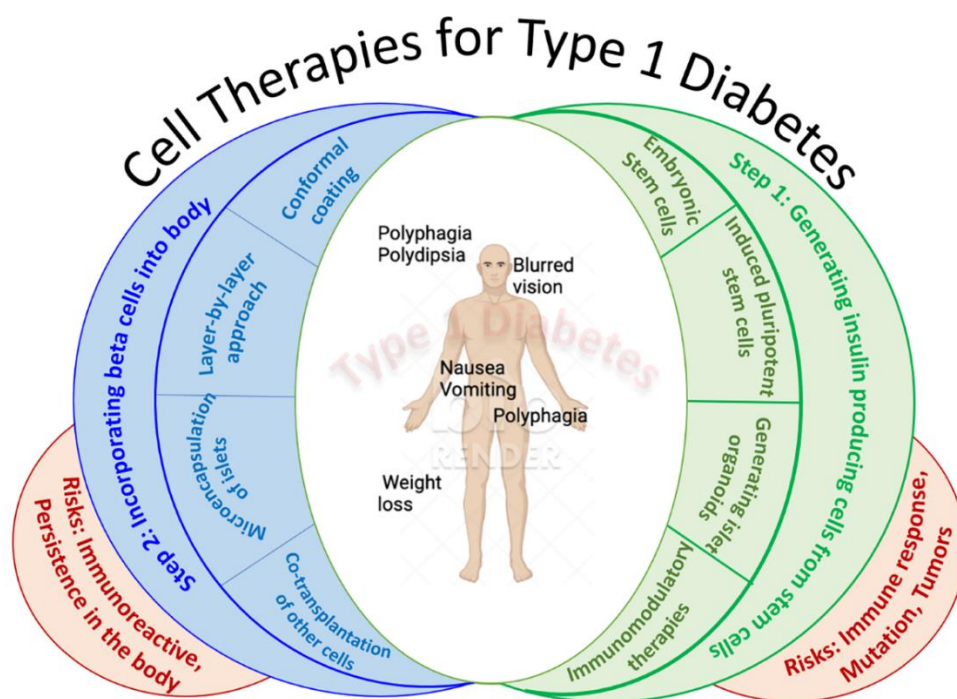
¹⁴¹ Rhee M, Lee S-H, Kim J-W, Ham D-S, Park H-S, Yang HK, (2016). et al. Preadipocyte factor 1 induces pancreatic ductal cell differentiation into insulin-producing cells. Sci Rep.;6:23960. doi: 10.1038/srep23960.

¹⁴² Gopurappilly, R., Bhat, V., Bhonde, R., (2013)., Pancreatic tissue resident mesenchymal stromal cell (MSC)-like cells as a source of in vitro islet neogenesis. J Cell Biochem. ;114:2240–2247. doi: 10.1002/jcb.24572.

¹⁴³ Sharma, A., Rani, R.,(2017) Do we really need to differentiate mesenchymal stem cells into insulin-producing cells for attenuation of the autoimmune responses in type 1 diabetes: immunoprophylactic effects of precursors to insulin-producing cells. Stem Cell Res Ther.;8:167. doi: 10.1186/s13287-017-0615-1.

4. ТРАНСПЛАНТАЦИЈА И ТРЕНУТНЕ НЕДОУМИЦЕ

Трансплантација матичних ћелија као терапија за T1DM постала је једно од кључних истраживачких поља у регенеративној медицини. Кључни циљ ове терапије је обнова функције β ћелија које су уништене аутоимунским процесом карактеристичним за T1DM. Иако се конвенционална терапија за T1DM ослања на доживотну примену инсулина, трансплантација матичних ћелија обећава дуготрајнији и потенцијално трајни начин лечења. Међутим, процес трансплантације није једноставан и укључује неколико кључних фаза: припрему пацијента, изолацију и припрему матичних ћелија, диференцијацију ћелија, трансплантацију и постоперативно праћење, узимајући у обзир могуће компликације и имунолошке изазове.



Слика 3. Кораци у трансплантацији матичних ћелија у третману лечења дијабетес мелитуса тип 1

(Извор: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12015-022-10482-1>)

4.1. Припрема пацијента

Пре трансплантације, пацијент се подвргава детаљној процени како би се установило његово опште здравствено стање и способност да издржи терапију матичним ћелијама. То подразумева процену нивоа аутоантитела, функцију преосталих β ћелија, присуство дијабетичких компликација, као и општу способност организма да прихвати нове ћелије. Пацијенти са T1DM обично имају повишен ниво аутоимунских маркера, што повећава ризик од одбацивања трансплантата. Због тога је често потребно применити имunosупресивну терапију како би се сузбила аутоимунска реакција која је првобитно узроковала уништавање β ћелија. Пре трансплантације, пацијенти могу проћи кроз процедуру кондиционирања, која укључује примену хемотерапије или зрачења. Овај поступак има за циљ да смањи активност имунског система и припреми тело за пријем трансплантираних ћелија. Кондиционирање је кључно за смањење вероватноће одбацивања трансплантата и за отварање простора у коштаном сржи за нове матичне ћелије. Правилно спроведена кондициона терапија повећава шансе за дуготрајно преживљавање и интеграцију трансплантованих ћелија.¹⁴⁴

4.2. Изолација и припрема матичних ћелија

Процес изолације матичних ћелија, посебно оних које се користе за терапију дијабетеса типа 1, захтева прецизне лабораторијске технике и специфичне услове за раст и диференцијацију. Матичне ћелије добијене из коштане сржи или адипозног ткива (ADSCs) су међу најчешће коришћеним у терапијским истраживањима због њихове способности да се диференцирају у различите типове ћелија, укључујући β ћелије. Након изолације из ткива донора, следећи корак је прочишћавање ћелија како би се осигурало да трансплантат садржи искључиво матичне ћелије које су погодне за терапијску употребу.¹⁴⁵

Процес изолације матичних ћелија из коштане сржи или адипозног ткива подразумева употребу различитих техника, укључујући центрифугирање и примену специфичних маркера на површини ћелија који омогућавају селекцију. На пример, CD34 маркер се користи за идентификацију матичних ћелија хематопоетског порекла, док се други маркери, као што су CD90 и CD105, користе за идентификацију MSCs. У лабораторијским условима, матичне ћелије се даље третирају специфичним факторима раста како би се повећала њихова

¹⁴⁴ Shapiro A.M.J., Ricordi C., Hering B.J. (2005) Clinical islet transplantation in type 1 diabetes mellitus: current status and future directions. *Diabetes Care.*;28(4):911-922. doi:10.2337/diacare.28.4.911.

¹⁴⁵ Pagliuca, F.W., Melton, D.A..(2013) How to make a functional β -cell. *Development.*;140(12):2472-2483. doi:10.1242/dev.093187.

пролиферација, док се користе инхибиторни агенси како би се спречила спонтана диференцијација пре него што ћелије буду спремне за трансплантацију.¹⁴⁶

Један од кључних изазова у терапијској употреби матичних ћелија јесте контрола над процесом диференцијације. Како би се постигла оптимална функција, матичне ћелије морају бити диферентоване у функционалне IPCs пре него што буду трансплантоване.

У лабораторијским условима, овај процес се индукује применом специфичних фактора раста, као што су PDX1 и NGN3, који активирају експресију гена важних за развој панкреасних ћелија. Ове молекуларне сигналне путеве је неопходно прецизно контролисати како би се осигурала правилна диференцијација и да би ћелије стекле способност да производе и ослобађају инсулин као одговор на ниво глукозе у крви.

Протокол за диференцијацију ћелија у IPCs захтева три кључне фазе:

- Прва фаза подразумева индукцију ћелија да постану сличне ендодерму, ткиву из којег се развија панкреас.
- Друга фаза укључује даље програмирање ових ћелија у прогениторе панкреасних ћелија.
- Трећа фаза се фокусира на коначну диференцијацију ћелија у функционалне β ћелије које производе инсулин.¹⁴⁷

Технолошки напредак у процесима изолације и диференцијације је од кључне важности, јер су истраживања показала да ефикасност производње IPCs директно утиче на успех трансплантације и могућност регулације нивоа глукозе у крви пацијената са дијабетесом типа 1.¹⁴⁸

4.3. Трансплантација ћелија

Када су ћелије успешно диференциране у IPCs, процес трансплантације може почети. Постоји неколико различитих приступа трансплантацији матичних ћелија, а одабрана метода зависи од различитих фактора, укључујући стање пацијента, врсту трансплантације и доступне медицинске ресурсе. Најчешће коришћене методе су интрапортална

¹⁴⁶ Shapiro, A.M., Ricordi, C., Hering, B.J. (2005). Clinical islet transplantation in type 1 diabetes mellitus: current status and future directions. *Diabetes Care.*;28(4):911-922. doi:10.2337/diacare.28.4.911.

¹⁴⁷ Millman, J.R., Xie, C., Van, Dervort, A., Gürtler, M., Pagliuca, F.W., Melton, D.A. (2016). Generation of stem cell-derived β -cells from patients with type 1 diabetes. *Nat Commun.*;7:11463. doi:10.1038/ncomms11463.

¹⁴⁸ Pagliuca, F.W., Melton, D.A. (2013) How to make a functional β -cell. *Development.*;140(12):2472-2483. doi:10.1242/dev.093187.

трансплантација, трансплантација у панкреасно ткиво и трансплантација под капсулу бубрега.

4.3.1. Интрапортална трансплантација

Интрапортална трансплантација је једна од најчешће коришћених техника за трансплантацију матичних ћелија које производе инсулин. У овој методи, диференциране ћелије се убризгавају директно у порталну вену пацијента, обично у јетру. Јетра је одабрана због своје способности да прихвати ћелије, као и због њеног капацитета да подржи дугорочну функционалност ћелија. Предност ове методе је што омогућава лако ослобађање инсулина у крвоток, чиме се осигурава стабилна контрола нивоа глукозе у крви.¹⁴⁹

Пре него што се ћелије убризгају, пацијент пролази кроз кондиционирање које укључује имуносупресивне лекове како би се спречила аутоимунска реакција организма на трансплантат. Примена лекова попут циклоспорина или такролимуса је стандардна пракса како би се смањила вероватноћа одбацивања трансплантата.¹⁵⁰

Међутим, упркос овим мерама, један од највећих изазова интрапорталне трансплантације јесте ризик од одумирања ћелија због недостатка кисеоника или упалних реакција које могу настати у јетри. Такође, јетра не пружа природно окружење за панкреасне ћелије, што може ограничити њихов дугорочни опстанак.¹⁵¹

4.3.2. Трансплантација у панкреасно ткиво

Трансплантација матичних ћелија директно у панкреасно ткиво представља још један приступ који се користи у T1DM. У овом случају, диференциране ћелије се убризгавају директно у оштећене делове панкреаса, са циљем да замене уништених β ћелија и обнове производње инсулина. Ова техника је сложенија од интрапорталне трансплантације због техничких изазова који се јављају током саме процедуре. Приступ панкреасу је инвазиван,

¹⁴⁹ Bochenek, M.A, Veisoh, O., Vegas,AJ, Dholakia N, Chiu A, Siebert S, et al. (2015) Alginate encapsulation as long-term immune protection of allogeneic pancreatic islet cells transplanted into diabetic mice. *Diabetes*.;64(6):2005-2015. doi:10.2337/db14-0636.

¹⁵⁰ Robertson RP, Davis C, Larsen J, Stratta R, Sutherland DE. (2006) Pancreas and islet transplantation in type 1 diabetes. *Diabetes Care*.;29(4):935-940. doi:10.2337/diacare.29.04.06.dc05-2415.

¹⁵¹ Pepper AR, Gala-Lopez B, Pawlick R, Bruni A, Wink J, Rafiei Y, et al.(2015) A prevascularized subcutaneous device-less site for islet and cellular transplantation. *Nat Biotechnol*.;33(5):518-523. doi:10.1038/nbt.3211.

што повећава ризик од компликација. Такође, панкреасно ткиво може бити погођено постојећим упалним процесима, што додатно компликује успешност трансплантације.¹⁵²

Међутим, успешна трансплантација у панкреасно ткиво може имати већи потенцијал за дугорочни успех јер омогућава ћелијама да функционишу у свом природном окружењу. У неким случајевима, комбинација трансплантације матичних ћелија и генетске модификације може бити коришћена како би се ћелије учиниле отпорнијим на аутоимунски напад.¹⁵³

4.3.3. Трансплантација под капсулу бубрега

Трансплантација под капсулу бубрега је још једна техника која се често користи у истраживањима на животињама. Ова метода укључује убризгавање диференцираних ћелија под капсулу бубрега, где оне могу преживети и даље се диференцирати. Бубрег пружа погодно окружење за ове ћелије јер је добро васкуларизован и омогућава једноставан приступ нутријентима и кисеонику.¹⁵⁴

Предност ове методе је њена техничка једноставност и могућност праћења функционалности трансплантираних ћелија, али њена клиничка примена код људи још увек није широко развијена. Такође, као и код других метода, неопходна је примена имуносупресивних лекова како би се спречило одбацивање трансплантата.¹⁵⁵

4.4. Постоперативна нега и имунолошки надзор

Након трансплантације, пацијент пролази кроз интензиван период постоперативног надзора, где се редовно прати ниво глукозе у крви, функционалност трансплантираних ћелија и општи имуносупресивни статус. Имуносупресивна терапија се користи како би се смањила вероватноћа одбацивања трансплантата. Лекови као што су такролимус и циклоспорин често се користе за сузбијање имунског одговора, али истовремено повећавају ризик од инфекција и других компликација. Један од кључних параметара успеха трансплантације је праћење С-пептида, маркера ендогене производње инсулина. Стабилизација нивоа глукозе без

¹⁵² Pepper AR, Gala-Lopez B, Pawlick R, Bruni A, Wink J, Rafiei Y, et al. A prevascularized subcutaneous device-less site for islet and cellular transplantation. *Nat Biotechnol.* 2015;33(5):518-523. doi:10.1038/nbt.3211.

¹⁵³ Robertson RP, Davis C, Larsen J, Stratta R, Sutherland DE. Pancreas and islet transplantation in type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2006;29(4):935-940. doi:10.2337/diacare.29.04.06.dc05-2415.

¹⁵⁴ Bochenek MA, Veiseh O, Vegas AJ, Dholakia N, Chiu A, Siebert S, et al. Alginate encapsulation as long-term immune protection of allogeneic pancreatic islet cells transplanted into diabetic mice. *Diabetes.* 2015;64(6):2005-2015. doi:10.2337/db14-0636.

¹⁵⁵ Robertson RP, Davis C, Larsen J, Stratta R, Sutherland DE. Pancreas and islet transplantation in type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2006;29(4):935-940. doi:10.2337/diacare.29.04.06.dc05-2415.

спољашње примене инсулина указује на то да трансплантиране ћелије успешно производе инсулин и одржавају гликемију у нормалним границама. Међутим, дугорочно праћење је неопходно како би се осигурала стабилност трансплантата, јер постоји могућност да имунски систем уништи нове β ћелије.¹⁵⁶

4.5. Изазови и будући правци истраживања

Иако трансплантација матичних ћелија обећава као терапија за T1DM и даље постоје бројни изазови. Одбацивање трансплантата и даље представља највећи проблем, упркос примени имуносупресивних лекова. Осим тога, могућност регенерације β ћелија и даље зависи од низа фактора, укључујући квалитет диференцијације ћелија, услове трансплантације и дугорочни имуносупресивни статус пацијента. Будуће истраживање ће се вероватно фокусирати на побољшање техника диференцијације, смањење имунолошког одговора, као и на примену генетски модификованих матичних ћелија које су отпорне на аутоимунски напад.¹⁵⁷

Као што је већ поменуто, како се ендокрини прогенитори диференцирају, они мигрирају у кохезивним групама и формирају издужене структуре налик пупољцима, које постају прекурсори острваца. Све већи број доказа указује на то да правилна регулација глукозе захтева координацију између различитих типова ћелија у острвцима; стога би могло бити корисније произвести комплетна острвца *in vitro*, уместо да се појединачне ћелије диференцирају у специфичне типове ћелија. Недавна студија је показала добијање прекурсора острваца из ембрионалних матичних ћелија, предлажући овај модел као оптималан за добијање целих популација острваца.¹⁵⁸

Трансплантација панкреасних прогениторских ћелија добијених из матичних ћелија, који ослобађају ексендин-4, показала је да се на овај начин подстиче пријем прогениторских ћелија и њихово сазревање ка инсулин-продукујућим β ћелијама, значајно повећавајући ниво С-пептида и смањујући ниво глукозе у крви код мишева са индукованим дијабетесом.¹⁵⁹

¹⁵⁶ Bochenek MA, Veisoh O, Vegas AJ, Dholakia N, Chiu A, Siebert S, et al. Alginate encapsulation as long-term immune protection of allogeneic pancreatic islet cells transplanted into diabetic mice. *Diabetes*. 2015;64(6):2005-2015. doi:10.2337/db14-0636.

¹⁵⁷ Pagliuca FW, Melton DA. How to make a functional β -cell. *Development*. 2013;140(12):2472-2483. doi:10.1242/dev.093187.

¹⁵⁸ Sharon N, Chawla R, Mueller J, Vanderhooft J, Whitehorn LJ, Rosenthal B, et al. A Peninsular structure coordinates asynchronous differentiation with morphogenesis to generate pancreatic islets. *Cell*. 2019;176:790–804. doi: 10.1016/j.cell.2018.12.003.

¹⁵⁹ Kasputis T, Clough D, Noto F, Rychel K, Dye B, Shea LD. (2018) Microporous polymer scaffolds for the transplantation of embryonic stem cell derived pancreatic progenitors to a clinically translatable site for the treatment of type 1 diabetes. *ACS Biomater Sci Eng*;4:1770–1778.

Хронична хипергликемија и имунодефицијентно окружење убрзавају сазревање трансплантираних прогениторских ћелија под бубрежном капсулом код мишева.¹⁶⁰

Контакт између панкреасних прогениторских ћелија пре трансплантације је кључан за њихово сазревање у инсулин-продукујуће ћелије (IPC) *in vivo*.¹⁶¹

Употреба TMP269, инхибитора хистона, код ћелија налик ендокриним прекурсорима добијених из MSC из Вартонове пихтије, значајно је побољшала диференцијацију ка инсулин-продукујућим ћелијама, што је показано повећаном експресијом PAX4, гена повезаних са β и δ ћелијама, као и повећаним лучењем инсулина на крају процеса сазревања.¹⁶² Други извештај описује побољшан протокол за диференцијацију ендокриних прекурсора панкреаса генерисаних из iPSCs, који је довео до стварања популација са више од 60% ћелија које експримирају инсулин, луче инсулин као одговор на глукозу и способне су да преокрену дијабетес код глодара.¹⁶³ Фактор преадипоцита 1 (Pref-1) учествује у пролиферацији и диференцијацији различитих прекурсорских ћелија.

Прекомерна експресија Pref-1 активира MAPK/AKT сигнализацију, која индукује диференцијацију хуманих панкреасних дукталних ћелија у β -like ћелије са повећаном синтезом и лучењем инсулина и побољшава хомеостазу глукозе убрзавањем регенерације дукталних и β ћелија панкреаса након повреде у дијабетес моделу животиња са уклоњеним делом панкреаса.¹⁶⁴ Када су MSC-like ћелије изоловане из панкреаса одраслих мишева биле изложене диференцијационом медијуму без серума, примећена је повећана експресија панкреасних маркера, Nkx2.2, Nkx6.1, Pdx1, инсулин и соматостатин, заједно са повећаним лучењем инсулина током дана у култури након излагања глукози.¹⁶⁵ Слично, инкубација хуманих ћелија панкреасног аналога са зрелим β ћелијама резултирала је диференцијацијом панкреасног анлаге у зреле β ћелије. Индуковане ћелије стекле су особине зрелих ћелија, укључујући повећану експресију транспортера глукозе-2, лучење инсулина као одговор на

¹⁶⁰ Bruin JE, Asadi A, Fox JK, Erenner S, Rezania A, Kieffer TJ. (2015) Accelerated maturation of human stem cell-derived pancreatic progenitor cells into insulin-secreting cells in immunodeficient rats relative to mice. *Stem Cell Rep.*;5:1081–1096. doi: 10.1016/j.stemcr.2015.10.013.

¹⁶¹ Beattie GM, Rubin JS, Mally MI, Otonkoski T, Hayek A. (1996) Regulation of proliferation and differentiation of human fetal pancreatic islet cells by extracellular matrix, hepatocyte growth factor, and cell-cell contact. *Diabetes*.;45:1223–1228. doi: 10.2337/diab.45.9.1223.

¹⁶² Belame Shivakumar S, Bharti D, Baregundi Subbarao R, Park J-M, Son Y-B, Ullah I, et al. (2019) Pancreatic endocrine-like cells differentiated from human umbilical cords Wharton's jelly mesenchymal stem cells using small molecules. *J Cell Physiol.*;234:3933–3947. doi: 10.1002/jcp.27184.

¹⁶³ Southard SM, Kotipatruni RP, Rust WL. (2018) Generation and selection of pluripotent stem cells for robust differentiation to insulin-secreting cells capable of reversing diabetes in rodents. *PLoS ONE*.;13:e0203126. doi: 10.1371/journal.pone.0203126.

¹⁶⁴ Rhee M, Lee S-H, Kim J-W, Ham D-S, Park H-S, Yang HK, et al. (2016) Preadipocyte factor 1 induces pancreatic ductal cell differentiation into insulin-producing cells. *Sci Rep.*;6:23960. doi: 10.1038/srep23960.

¹⁶⁵ Gopurappilly R, Bhat V, Bhonde R. (2013) Pancreatic tissue resident mesenchymal stromal cell (MSC)-like cells as a source of in vitro islet neogenesis. *J Cell Biochem.*;114:2240–2247. doi: 10.1002/jcb.24572.

глукозу *in vitro*, и корекцију хипергликемије *in vivo* када су котрансплантоване са васкуларним ћелијама.¹⁶⁶

Студије су такође показале имунопрофилактичке ефекте прекурсора на IPCs. Култура MSCs у медијуму са високим нивоом глукозе довела је до генерисања прекурсора β -like ћелија које су способне да се даље диференцирају у зреле IPCs.¹⁶⁷ Диференцијација прекурсора у IPC изгледа да ефикасније зауставља аутоимунски одговор код дијабетес мелитуса типа 1 када се примени пре почетка болести код NOD мишева, у поређењу са диференцираним IPC.¹⁶⁸

Недавни напредак у ксенотрансплантацији изолованих острваца „хуманизованих“ свињских панкреасних острваца са више елиминисаних гена могао би понудити једно од могућих решења, потенцијално уз помоћ приступа за уређивање гена базираних на системима CRISPR/Cas-9, али то тек треба да се докаже у пракси. Производи нових β ћелија добијених из људских матичних ћелија могли би ефикасно да реше глобални проблем снабдевања и омогуће широку примену у лечењу свих облика дијабетеса, али поновљена аутоимунска реакција можда ће и даље остати непремостив изазов.¹⁶⁹

4.5.1. Примена хемијски активираних плурипотентних матичних ћелија у терапији дијабетеса мелитуса типа 1

Традиционална терапија заснована на примени инсулина не решава проблем регенерације оштећених β ћелија, што ствара потребу за новим, регенеративним терапијама. Један од најновијих напредака у овој области је примена хемијски индуцираних плурипотентних матичних ћелија (CiPSCs), које представљају перспективну алтернативу традиционалним терапијама.^{170, 171}

¹⁶⁶ Chen W, Begum S, Opare-Addo L, Garyu J, Gibson TF, Bothwell AL, et al. (2009) Promotion of beta-cell differentiation in pancreatic precursor cells by adult islet cells. *Endocrinology*;150:570–579. doi: 10.1210/en.2008-1009.

¹⁶⁷ Schneiderman N, Llabre M, Cowie CC, Barnhart J, Carnethon M, Gallo LC, et al. (2014) Prevalence of diabetes among Hispanics/Latinos from diverse backgrounds: the Hispanic community health study/study of Latinos (HCHS/SOL) *Diabetes Care*;37:2233–2239. doi: 10.2337/dc13-2939.

¹⁶⁸ Sharma A, Rani R. (2017) Do we really need to differentiate mesenchymal stem cells into insulin-producing cells for attenuation of the autoimmune responses in type 1 diabetes: immunoprophylactic effects of precursors to insulin-producing cells. *Stem Cell Res Ther*;8:167. doi: 10.1186/s13287-017-0615-1.

¹⁶⁹ Dadheech N, James Shapiro AM. Human Induced Pluripotent Stem Cells in the Curative Treatment of Diabetes and Potential Impediments Ahead. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1144:25-35. doi:10.1007/5584_2018_305

¹⁷⁰ Wang, Shusen, Du, Yuanyuan, Zhang, Boya, et al. Transplantation of Chemically Induced Pluripotent Stem-Cell-Derived Islets Under Abdominal Anterior Rectus Sheath in a Type 1 Diabetes Patient. *Cell*, 2024; 187: 6152–6164. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.09.004>

¹⁷¹ Guan, J., Wang, G., et al. Chemical reprogramming of human somatic cells to pluripotent stem cells. *Nature*. 2022; 605: 325–331.

CiPSCs су плурипотентне ћелије које се добијају хемијским путем, без генетских модификација, што их чини сигурнијим и приступачнијим за терапијске примене.¹⁷² Овај приступ користи мале молекуле за репрограмирање соматских ћелија, попут фибробласта, у плурипотентне ћелије.¹⁷³ Предност CiPSCs у поређењу са традиционалним индукованим плурипотентним матичним ћелијама (iPSCs) лежи у њиховој већој стабилности и смањеном ризику од туморогенезе, што их чини погоднијим за клиничке примене.^{174, 175}

Новије студије истражују потенцијал трансплантације CiPSCs-диферентованих острваца панкреаса код пацијената са T1DM. Трансплантација ових ћелија обезбеђује регенерацију функционалних β ћелија, што омогућава самосталну производњу инсулина у организму пацијента.¹⁷⁶ Једно од пионирских истраживања које је спроведено у Кини доказало је да трансплантација CiPSC-диферентованих острваца испод предње абдоминалне мишићне овојнице може омогућити потпуну независност од инсулина код пацијената са дијабетесом типа 1, уз постизање нормалног нивоа HbA1c и стабилне гликемије у циљаном опсегу.¹⁷⁷

У овој студији, пацијент је постигао потпуни прекид примене инсулина 75 дана након трансплантације, а на крају једногодишњег праћења гликемија је била стабилна у више од 98% времена, што је значајно побољшање у односу на стандардну терапију инсулином.^{178, 179}

Један од кључних изазова у терапији базираној на матичним ћелијама је безбедност трансплантације. Иако трансплантација iPSCs може изазвати имунолошке реакције или развој тумора, CiPSCs нуде смањен ризик од тих компликација, јер се користе аутологне ћелије пацијента.¹⁸⁰

¹⁷² Shi, Y., Inoue, H., Wu, J.C., Yamanaka, S. Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2017; 16: 115–130.

¹⁷³ Takahashi, K., Yamanaka, S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell.* 2006; 126: 663–676.

¹⁷⁴ American Diabetes Association (ADA). Glycemic Goals and Hypoglycemia: Standards of Care in Diabetes. *Diabetes Care.* 2024; 47: S111–S125.

¹⁷⁵ Liang, Z., Sun, D., et al. Implantation underneath the abdominal anterior rectus sheath enables effective and functional engraftment of stem-cell-derived islets. *Nat. Metab.* 2023; 5: 29–40.

¹⁷⁶ Wang, Shusen, Du, Yuanyuan, Zhang, Boya, et al. Transplantation of Chemically Induced Pluripotent Stem-Cell-Derived Islets Under Abdominal Anterior Rectus Sheath in a Type 1 Diabetes Patient. *Cell*, 2024; 187: 6152–6164. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.09.004>

¹⁷⁷ Veres, A., Faust, A.L., et al. Charting cellular identity during human in vitro beta-cell differentiation. *Nature.* 2019; 569: 368–373.

¹⁷⁸ Wang, Shusen, Du, Yuanyuan, Zhang, Boya, et al. Transplantation of Chemically Induced Pluripotent Stem-Cell-Derived Islets Under Abdominal Anterior Rectus Sheath in a Type 1 Diabetes Patient. *Cell*, 2024; 187: 6152–6164. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.09.004>

¹⁷⁹ Rezania, A., Bruin, J.E., et al. Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived in vitro from human pluripotent stem cells. *Nat. Biotechnol.* 2014; 32: 1121–1133.

¹⁸⁰ Liang, Z., Sun, D., et al. Implantation underneath the abdominal anterior rectus sheath enables effective and functional engraftment of stem-cell-derived islets. *Nat. Metab.* 2023; 5: 29–40.

У претходним истраживањима, трансплантација CiPSCs -диференцираних острваца код животиња није показала знаке туморогенезе или прекомерног раста, а у клиничким студијама је потврђено да трансплантација испод абдоминалне мишићне овојнице има додатну предност јер обезбеђује бољу васкуларизацију трансплантираних ћелија.¹⁸¹

Ова стратегија трансплантације омогућава континуирани надзор графта помоћу техника попут ултразвука и магнетне резонанце, што побољшава безбедност и омогућава брзо препознавање потенцијалних проблема.¹⁸²

У поређењу са традиционалном интрапорталном трансплантацијом, која се често користи у лечењу дијабетеса путем трансплантације панкреасних острваца, трансплантација испод абдоминалне мишићне овојнице има бројне предности. Ова локација обезбеђује боље преживљавање и функционалну матурацију трансплантираних ћелија. Такође, омогућава лакши приступ за праћење трансплантираних ћелија, што је кључно за правовремену интервенцију у случају компликација.¹⁸³

Највећа предност овог вида трансплантације је смањење ризика од *istant istant blood-mediated inflammatory response* (IBMIR) који је често изазван традиционалним интрапорталним трансплантацијама.¹⁸⁴

Регенерација β ћелија панкреаса код пацијената са дијабетесом типа 1 представља кључни корак ка лечењу ове болести. CiPSCs диференцирани у β ћелије показују способност за секрецију инсулина као одговор на промене нивоа глукозе у крви, чиме се постиже природна регулација нивоа глукозе, што није могуће са стандардним третманима инсулином.¹⁸⁵

У клиничким студијама, CiPSCs диферентована острвца су била ефикасна у враћању ендogene производње инсулина, што је омогућило пацијентима да се ослободе потреба за егзоинсулином и значајно побољшају квалитет живота.¹⁸⁶

¹⁸¹ Veres, A., Faust, A.L., et al. Charting cellular identity during human in vitro beta-cell differentiation. *Nature*. 2019; 569: 368–373.

¹⁸² Shapiro, A.M.J., Pokrywczynska, M., Ricordi, C. Clinical pancreatic islet transplantation. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2017; 13: 268–277.

¹⁸³ Liang, Z., Sun, D., et al. Implantation underneath the abdominal anterior rectus sheath enables effective and functional engraftment of stem-cell-derived islets. *Nat. Metab.* 2023; 5: 29–40.

¹⁸⁴ Rezania, A., Bruin, J.E., et al. Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived in vitro from human pluripotent stem cells. *Nat. Biotechnol.* 2014; 32: 1121–1133.

¹⁸⁵ Veres, A., Faust, A.L., et al. Charting cellular identity during human in vitro beta-cell differentiation. *Nature*. 2019; 569: 368–373.

¹⁸⁶ Pagliuca, F.W., Millman, J.R., et al. Generation of functional human pancreatic beta cells in vitro. *Cell*. 2014; 159: 428–439.

Иако су иницијални резултати обећавајући, терапија базирана на CiPSCs мора проћи кроз даља истраживања и клиничке студије како би се проценила њена дугорочна ефикасност и безбедност. Посебно је важно истражити потенцијалне имунолошке реакције, иако аутологна природа CiPSCs смањује ризик од одбацивања трансплантата.¹⁸⁷ Даљи рад ће такође бити потребан како би се оптимизовали процеси диференцијације и трансплантације, као и да би се решавали изазови везани за дугорочно преживљавање трансплантованих ћелија у организму пацијента.¹⁸⁸

¹⁸⁷ Pagliuca, F.W., Millman, J.R., et al. Generation of functional human pancreatic beta cells in vitro. *Cell*. 2014; 159: 428–439.

¹⁸⁸ Nair, G.G., Liu, J.S., et al. Recapitulating endocrine cell clustering in culture promotes maturation of human stem-cell-derived beta cells. *Nat. Cell Biol.* 2019; 21: 263–274.

ЗАКЉУЧАК

Закључак рада на тему „Терапијски потенцијал примене матичних ћелија у лечењу дијабетеса типа 1” указује на огромне могућности које матичне ћелије пружају у трансформацији начина лечења ове болести. Традиционалне методе, које се ослањају на доживотну екзогену примену инсулина, успешне су у контроли нивоа шећера у крви, али не омогућавају регенерацију оштећених β ћелија панкреаса, што је главни проблем код дијабетеса типа 1. С друге стране, терапије базиране на матичним ћелијама пружају могућност обнављања функције панкреаса кроз регенерацију ендогених инсулин-продукујућих ћелија, чиме би се омогућила природна регулација шећера у крви.

У раду су разматрани различити типови матичних ћелија, укључујући оне добијене из коштане сржи, адипозног ткива и пупчане врпце. Посебно је наглашен њихов потенцијал за диференцијацију у функционалне β ћелије, као и њихова улога у модификацији имунолошког одговора код дијабетеса типа 1, где би ове ћелије могле спречити даље уништавање панкреасних ћелија. Клиничке студије су већ показале одређене успехе, нарочито у регенерацији ткива и постизању бољег имunosупресивног ефекта. Примена хемијски активираних плурипотентних матичних ћелија представља перспективну алтернативу традиционалним терапијама.

Ипак, постоје значајни изазови који морају бити решени пре него што матичне ћелије постану стандардна терапија за дијабетес типа 1. Кључни проблеми укључују могућност одбацивања трансплантираних ћелија, контролу диференцијације матичних ћелија у функционалне β ћелије, као и дугорочну одрживост ових ћелија у организму пацијента. Успешан развој терапија захтева даља истраживања и оптимизацију техника изолације, припреме и трансплантације матичних ћелија.

Закључно, потенцијал примене матичних ћелија у лечењу дијабетеса типа 1 је изузетан и представља важан корак ка развоју ефикаснијих, дугорочних решења за ову хроничну болест. Са наставком истраживања и технолошког напретка, постоји реална могућност да матичне ћелије постану кључни фактор у терапији дијабетеса типа 1, што би значајно унапредило квалитет живота пацијената.

ЛИТЕРАТУРА

1. Abumaree MH, Abomaray FM, Alshabibi MA, et al. (2017). Human Placenta-Derived Mesenchymal Stem Cells as a Potential Therapy for Diabetic Patients: A Review. *Placenta*, 59:87–95. doi:10.1016/j.placenta.2017.04.003.
2. Aghazadeh Y, Nostro MC. (2017). Cell Therapy for Type 1 Diabetes: Current and Future Strategies. *Curr Diab Rep* 17:37.
3. Ahmed R, Omidian Z, Donner T, Hamad ARA. (2018). Hiding in plain sight: time to unlock autoimmune clues in human CD5+ B cells by using nextgen technology. *Discov Med* 26:79–83.
4. Ahmed R, Omidian Z, Giwa A, Cornwell B, Majety N, Bell DR, Lee S, Zhang H, Michels A, Desiderio S, Sadegh-Nasseri S, Rabb H, Gritsch S, Suva ML, Cahan P, Zhou R, Jie C, Donner T, Hamad ARA. (2019). A Public BCR Present in a Unique Dual-Receptor-Expressing Lymphocyte from Type 1 Diabetes Patients Encodes a Potent T Cell Autoantigen. *Cell* 177:1583–1599.e16.
5. American Diabetes Association (ADA). Glycemic Goals and Hypoglycemia: Standards of Care in Diabetes. *Diabetes Care*. 2024; 47: S111–S125.
6. Bakhti M, Böttcher A, Lickert H. (2019). Modelling the endocrine pancreas in health and disease. *Nat Rev Endocrinol* 15:155–171. doi:10.1038/s41574-018-0132-z.
7. Beattie GM, Rubin JS, Mally MI, Otonkoski T, Hayek A. (1996). Regulation of proliferation and differentiation of human fetal pancreatic islet cells by extracellular matrix, hepatocyte growth factor, and cell-cell contact. *Diabetes*, 45:1223–1228. doi:10.2337/diab.45.9.1223.
8. Belame Shivakumar S, Bharti D, Baregundi Subbarao R, Park J-M, Son Y-B, Ullah I, et al. (2019). Pancreatic endocrine-like cells differentiated from human umbilical cords Wharton’s jelly mesenchymal stem cells using small molecules. *J Cell Physiol*, 234:3933–3947. doi:10.1002/jcp.27184.
9. Ben Nasr M, D'Addio F, Malvandi AM, Faravelli S, Castillo-Leon E, Usuelli V, et al. (2018). Prostaglandin E2 Stimulates the Expansion of Regulatory Hematopoietic Stem and Progenitor Cells in Type 1 Diabetes. *Front Immunol*, 9:1387.
10. Bochenek MA, Veiseh O, Vegas AJ, Dholakia N, Chiu A, Siebert S, et al. (2015). Alginate encapsulation as long-term immune protection of allogeneic pancreatic islet cells transplanted into diabetic mice. *Diabetes*, 64(6):2005-2015. doi:10.2337/db14-0636.
11. Brennan J, Lu CC, Norris DP, Rodriguez TA, Beddington RS, Robertson EJ. (2001). Nodal signalling in the epiblast patterns the early mouse embryo. *Nature* 411:965–969. doi:10.1038/35082103.

12. Bukovsky A. (2007). Cell commitment by asymmetric division and immune system involvement. *Prog Mol Subcell Biol* 45:179-204.
13. Buron F, Reffet S, Badet L, Morelon E, Thauinat O. (2021). Immunological Monitoring in Beta Cell Replacement: Towards a Pathophysiology-Guided Implementation of Biomarkers. *Curr Diabetes Rep* 21(6):19. doi:10.1007/s11892-021-01386-4.
14. Burrack AL, Martinov T, Fife BT. (2017). T Cell-Mediated Beta Cell Destruction: Autoimmunity and Alloimmunity in the Context of Type 1 Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)* 8:343.
15. Cai J, Wu Z, Xu X, Liao L, Chen J, Huang L, et al. (2016). 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*, 39:149–157.
16. Cai J, Yu C, Liu Y, Chen S, Guo Y, Yong J, et al. (2010). Generation of homogeneous PDX1+ pancreatic progenitors from human ES cell-derived endoderm cells. *J Mol Cell Biol*, 2:50–60. doi:10.1093/jmcb/mjp037.
17. Chan J, Clements W, Field J, Nasa Z, Lock P, Yap F, et al. (2006). Transplantation of Bone Marrow Genetically Engineered to Express Proinsulin II Protects Against Autoimmune Insulinitis in NOD Mice. *J Gene Med*, 8:1281–1290.
18. Chen LB, Jiang XB, Yang L (2004). Differentiation of rat marrow mesenchymal stem cells into pancreatic islet beta-cells. *World J Gastroenterol*, 10:3016–3020. doi:10.3748/wjg.v10.i20.3016.
19. Chen PY, Huang LLH, Hsieh HJ. (2007). Hyaluronan preserves the proliferation and differentiation potentials of long-term cultured murine adipose-derived stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 360:1–6. doi:10.1016/j.bbrc.2007.04.211.
20. Chen W, Begum S, Opare-Addo L, Garyu J, Gibson TF, Bothwell AL, et al. (2009). Promotion of beta-cell differentiation in pancreatic precursor cells by adult islet cells. *Endocrinology*, 150:570–579. doi:10.1210/en.2008-1009.
21. Chiang JL, Kirkman MS, Laffel LM, Peters AL. (2014). Type 1 Diabetes Sourcebook A: Type 1 Diabetes Through the Life Span: A Position Statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care* 37(7):2034–54. doi: 10.2337/dc14-1140.
22. Choi KS, Shin JS, Lee JJ, Kim YS, Kim SB, Kim CW (2005). In vitro trans-differentiation of rat mesenchymal cells into insulin-producing cells by rat pancreatic extract. *Biochem Biophys Res Commun*, 330:243–249. doi:10.1016/j.bbrc.2005.03.124.
23. Copelan EA (2006). Hematopoietic Stem-Cell Transplantation. *N Engl J Med*, 354:1813–1826.

24. Corradi-Perini C, Santos TM, Camara NOS, Riella MC, Aita CAM (2017). Co-transplantation of xenogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells alleviates rejection of pancreatic islets in non-obese diabetic mice. *Transplant Proc*, 49:902–905. doi:10.1016/j.transproceed.2017.01.064.
25. Corselli M, Chin CJ, Parekh C, Sahaghian A, Wang W, Ge S, et al. (2013). Perivascular support of human hematopoietic stem/progenitor cells. *Blood*, 121:2891-2901.
26. Crisan M, Yap S, Casteilla L, Chen CW, Corselli M, Park TS, et al. (2008). A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. *Cell Stem Cell*, 3:301-313.
27. Cryer PE. (2013). Mechanisms of hypoglycemia-associated autonomic failure in diabetes. *N Engl J Med* 369:362–372. doi:10.1056/NEJMra1215228
28. Dabelea D, Rewers A, Stafford JM, Standiford DA, Lawrence JM, Saydah S, Imperatore G, D'Agostino RB, Mayer-Davis EJ, Pihoker C., SEARCH for Diabetes in Youth Study Group. (2014). Trends in the prevalence of ketoacidosis at diabetes diagnosis: the SEARCH for diabetes in youth study. *Pediatrics* 133(4).
29. D'Amour KA, Agulnick AD, Eliazer S, Kelly OG, Kroon E, Baetge EE. (2005). Efficient differentiation of human embryonic stem cells to definitive endoderm. *Nat Biotechnol* 23:1534–1541. doi:10.1038/nbt1163.
30. Dadheech N, James Shapiro AM. Human Induced Pluripotent Stem Cells in the Curative Treatment of Diabetes and Potential Impediments Ahead. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1144:25-35. doi:10.1007/5584_2018_305ccc
31. DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, Hu FB, Kahn CR, Raz I, Shulman GI, et al. (2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers* 1:15019. doi:10.1038/nrdp.2015.19
32. DIAMOND Project Group. (2006). Incidence and trends of childhood type 1 diabetes worldwide 1990–1999. *Diabet Med* 23:857–866.
33. Dutta D, Heo I, Clevers H. (2017). Disease modeling in stem cell-derived 3D organoid systems. *Trends Mol Med* 23:393–410. doi:10.1016/j.molmed.2017.02.007.
34. Eaves CJ (2015). Hematopoietic Stem Cells: Concepts, Definitions, and the New Reality. *Blood*, 125:2605–2613.
35. Edondo MJ, Rewers M, Yu L, Garg S, Pilcher CC, Elliott RB, Eisenbarth GS. (1999). Genetic determination of islet cell autoimmunity in monozygotic twin, dizygotic twin, and non-twin siblings of patients with type 1 diabetes: prospective twin study. *BMJ* 318:698–702.
36. Engler AJ, Sen S, Sweeney HL, Discher DE (2006). Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell*, 126:677-689.

37. Francese R, Fiorina P (2010). Immunological and Regenerative Properties of Cord Blood Stem Cells. *Clin Immunol*, 136:309–322. doi:10.1016/j.clim.2010.04.010.
38. Gale E.A., Gillespie K.M. (2001). Diabetes and gender. *Diabetologia* 44:3–15.
39. Gopurappilly R, Bhat V, Bhonde R. (2013). Pancreatic tissue resident mesenchymal stromal cell (MSC)-like cells as a source of in vitro islet neogenesis. *J Cell Biochem*, 114:2240–2247. doi:10.1002/jcb.24572.
40. Guan, J., Wang, G., et al. Chemical reprogramming of human somatic cells to pluripotent stem cells. *Nature*. 2022; 605: 325–331.
41. Harjutsalo V, Reunanen A, Tuomilehto J. (2006). Differential transmission of type 1 diabetes from diabetic fathers and mothers to their offspring. *Diabetes* 55:1517–1524.
42. Henry GL, Brivanlou IH, Kessler DS, Hemmati-Brivanlou A, Melton DA. (1996). TGF- β signals and a pattern in *Xenopus laevis* endodermal development. *Development* 122:1007–1015.
43. Hess D, Li L, Martin M, Sakano S, Hill D, Strutt B, et al. (2003). Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration. *Nat Biotechnol*, 21:763–770. doi:10.1038/nbt849.
44. Holt RIG, DeVries JH, Hess-Fischl A, Hirsch IB, Kirkman MS, Klupa T, Ludwig B, Nørgaard K, Pettus J, Renard E, Skyler JS, Snoek FJ, Weinstock RS, Peters AL. (2022). Correction to: The management of type 1 diabetes in adults. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia* 65(1):255.
45. Hu J, Yu X, Wang Z. Long term effects of the implantation of Wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells from the umbilical cord for newly onset type 1 diabetes mellitus.
46. Huangfu D. (2008). Induction of pluripotent stem cells from primary human fibroblasts with only Oct4 and Sox2. *Nature Biotechnology* 26(11):1269-1275.
47. Huch M, Koo BK. (2015). Modeling mouse and human development using organoid cultures. *Development* 142:3113–3125. doi:10.1242/dev.118570.
48. Ianus A, Holz GG, Theise ND, Hussain MA (2003). In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *J Clin Invest*, 111:843–850. doi:10.1172/JCI200317784.
49. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, et al. (2002). Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, 418:41–49. doi:10.1038/418041a.
50. Jun H-S, Park E-Y (2009). Adult stem cells as a renewable source of insulin-producing cells. *Int J Stem Cells*, 2:115–121. doi:10.15283/ijsc.2009.2.2.115.

51. Kariminekoo S, Movassaghpour A, Rahimzadeh A, Talebi M, Shamsasenjan K, Akbarzadeh A. (2016). Implications of mesenchymal stem cells in regenerative medicine. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 44(3):749-757.
52. Karnieli O, Izhar-Prato Y, Bulvik S, Efrat S (2007). Generation of insulin-producing cells from human bone marrow mesenchymal stem cells by genetic manipulation. *Stem Cells*, 25:2837–2844.
53. Kasputis T, Clough D, Noto F, Rychel K, Dye B, Shea LD. (2018). Microporous polymer scaffolds for the transplantation of embryonic stem cell derived pancreatic progenitors to a clinically translatable site for the treatment of type I diabetes. *ACS Biomater Sci Eng*, 4:1770–1778.
54. Kolios G, Moodley Y. (2013). Introduction to stem cells and regenerative medicine. *Respiration* 85(1):3-10.
55. Korytnikov R, Nostro MC. (2016). Generation of Polyhormonal and Multipotent Pancreatic Progenitor Lineages From Human Pluripotent Stem Cells. *Methods*, 101:56–64. doi:10.1016/j.ymeth.2015.10.017.
56. Krischer JP, Liu X, Lernmark Å, Hagopian WA, Rewers MJ, She JX, Toppari J, Ziegler AG, Akolkar B., TEDDY Study Group. (2022). Predictors of the Initiation of Islet Autoimmunity and Progression to Multiple Autoantibodies and Clinical Diabetes: The TEDDY Study. *Diabetes Care* 45(10):2271-2281.
57. Kroon E, Martinson LA, Kadoya K, Bang AG, Kelly OG, Eliazar S, Young H, Richardson M, Smart NG, Cunningham J, et al. (2008). Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells in vivo. *Nat Biotechnol* 26:443–452.
58. Lampousi AM, Carlsson S, Löfvenborg JE. (2021). Dietary factors and risk of islet autoimmunity and type 1 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *EBioMedicine* 72:103633.
59. Lee RH, Seo MJ, Reger RL, Spees JL, Pulin AA, Olson SD, et al. (2006). Multipotent stromal cells from human marrow home to and promote repair of pancreatic islets and renal glomeruli in diabetic NOD/scid mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103:17438–17443. doi:10.1073/pnas.0608249103.
60. Leng Q, Nie Y, Zou Y, Chen J (2008). Elevated CXCL12 Expression in the Bone Marrow of NOD Mice Is Associated With Altered T Cell and Stem Cell Trafficking and Diabetes Development. *BMC Immunol*, 9:51.
61. Lerou PH, Daley GQ. (2005). Therapeutic potential of embryonic stem cells. *Blood Reviews* 19(6):321-331.

62. Li H, Ghazanfari R, Zacharaki D, Lim HC, Scheduling S. (2016). Isolation and characterization of primary bone marrow mesenchymal stromal cells. *Ann N Y Acad Sci* 1370(1):109-118.
63. Li Y, Zhang R, Qiao H, Zhang H, Wang Y, Yuan H, et al. (2007). Generation of insulin-producing cells from PDX-1 gene-modified human mesenchymal stem cells. *J Cell Physiol*, 212:258–265. doi:10.1002/jcp.20917.
64. Liang, Z., Sun, D., et al. Implantation underneath the abdominal anterior rectus sheath enables effective and functional engraftment of stem-cell-derived islets. *Nat. Metab.* 2023; 5: 29–40.
65. Liu CM, Chang CH, Yu CH, Hsu CC, Huang L. (2009). Hyaluronan substratum induces multidrug resistance in human mesenchymal stem cells via CD44 signaling. *Cell Tissue Res* 336:465–475. doi:10.1007/s00441-009-0780-3.
66. Loretelli C, Assi E, Seelam AJ, Ben Nasr M, Fiorina P (2020). Cell Therapy for Type 1 Diabetes. *Expert Opin Biol Ther*, 20:887–897. doi:10.1080/14712598.2020.1748596.
67. Lu J, Shen SM, Ling Q, Wang B, Li LR, Zhang W, et al. (2021). One Repeated Transplantation of Allogeneic Umbilical Cord Mesenchymal Stromal Cells in Type 1 Diabetes: An Open Parallel Controlled Clinical Study. *Stem Cell Res Ther*, 12:340.
68. Lu LL, Liu YJ, Yang SG, Zhao QJ, Wang X, Gong W, et al. (2006). Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials. *Haematologica*, 91:1017–1026.
69. Maahs DM, West NA, Lawrence JM, Mayer-Davis EJ. (2010). Epidemiology of type 1 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 39:481–497.
70. Maehr R, Chen S, Snitow M, Ludwig T, Yagasaki L, Golland R, et al. (2009). Generation of Pluripotent Stem Cells From Patients With Type 1 Diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 106:15768–15773. doi:10.1073/pnas.0906894106.
71. Malanchi I, Peinado H, Kassen D. (2008). Cutaneous cancer stem cell maintenance is dependent on catenin signalling. *Nature* 452:650-653.
72. Marfia G, Navone SE, Di Vito C, Ughi N, Tabano S, Miozzo M, et al. (2015). Mesenchymal stem cells: potential for therapy and treatment of chronic non-healing skin wounds. *Organogenesis* 11(4):183-206.
73. Marion NW, Mao JJ. (2006). Mesenchymal stem cells and tissue engineering. *Methods in Enzymology* 420:339-361.
74. Mayani H (2011). Umbilical cord blood: Lessons learned and lingering challenges after more than 20 years of basic and clinical research. *Arch Med Res*, 42:645–651.

75. Mesples A, Majeed N, Zhang Y, Hu X (2013). Early Immunotherapy Using Autologous Adult Stem Cells Reversed the Effect of Anti-Pancreatic Islets in Recently Diagnosed Type 1 Diabetes Mellitus: Preliminary Results. *Med Sci Monit*, 19:852–857.
76. Millman JR, Xie C, Van Dervort A, Gürtler M, Pagliuca FW, Melton DA. (2016). Generation of stem cell-derived β -cells from patients with type 1 diabetes. *Nat Commun*, 7:11463. doi:10.1038/ncomms11463.
77. Mimeault M, Batra SK. (2006). Concise review: recent advances on the significance of stem cells in tissue regeneration and cancer therapies. *Stem Cells* 24(11):2319-2345.
78. Moltchanova E.V., Schreier N., Lammi N., Karvonen M. (2009). Seasonal variation of diagnosis of type 1 diabetes mellitus in children worldwide. *Diabet Med* 26:673–678.
79. Morahan G. (2012). Insights into type 1 diabetes provided by genetic analyses. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 19:263–270.
80. Moriscot C, De Fraipont F, Richard MJ, Marchand M, Savatier P, Bosco D, et al. (2005). Human bone marrow mesenchymal stem cells can express insulin and key transcription factors of the endocrine pancreas developmental pathway upon genetic and/or microenvironmental manipulation in vitro. *Stem Cells*, 23:903–911. doi:10.1634/stemcells.2005-0052.
81. Morokoff A, Ng W, Gogos A, Kaye AH. (2015). Molecular subtypes, stem cells and heterogeneity: Implications for personalised therapy in glioma. *J Clin Neurosci* 22(8):1219-1226.
82. Morrison SJ. (1996). The aging of hematopoietic stem cells. *Nat Med* 2(9):1011-1016.
83. Mountford JC. (2008). Human embryonic stem cells: origins, characteristics and potential for regenerative therapy. *Transfus Med* 18(1):1-12.
84. Murry CE, Keller G. (2008). Differentiation of embryonic stem cells to clinically relevant populations: lessons from embryonic development. *Cell* 132:661–680. doi:10.1016/j.cell.2008.02.008.
85. Mushahary D, Spittler A, Kasper C, Weber V, Charwat V (2018). Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells. *Cytometry A*, 93:19-31.
86. Nair GG, Liu JS, Russ HA, Tran S, Saxton MS, Chen R, Juang C, Li ML, Nguyen VQ, Giacometti S, et al. (2019). Recapitulating endocrine cell clustering in culture promotes maturation of human stem-cell-derived β cells. *Nat Cell Biol* 21:263–274. doi:10.1038/s41556-018-0271-4.
87. O'Donoghue K, Fisk NM. (2004). Fetal stem cells. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology* 18(6):853-875.
88. Pagliuca FW, Melton DA. (2013). How to make a functional β -cell. *Development*, 140(12):2472-2483. doi:10.1242/dev.093187.

89. Pagliuca FW, Millman JR, Gürtler M, Segel M, Van Dervort A, Ryu JH, Peterson QP, Greiner D, Melton DA. (2014). Generation of functional human pancreatic β cells in vitro. *Cell* 159:428–439. doi:10.1016/j.cell.2014.09.040.
90. Patterson C.C., Dahlquist G.G., Gyurus E., Green A., Soltesz G. (2009). Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989–2003 and predicted new cases 2005–20: a multicentre prospective registration study. *Lancet* 373:2027–2033.
91. Pepper AR, Gala-Lopez B, Pawlick R, Bruni A, Wink J, Rafiei Y, et al. (2015). A prevascularized subcutaneous device-less site for islet and cellular transplantation. *Nat Biotechnol*, 33(5):518-523. doi:10.1038/nbt.3211.
92. Phuc PV, Nhung TH, Loan DT (2011). Differentiation of banked human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells into insulin-secreting cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 47:54–63.
93. Pociot F. (2017). Type 1 diabetes genome-wide association studies: not to be lost in translation. *Clin Transl Immunology* 6.
94. Polymeri A, Giannobile WV, Kaigler D. (2016). Bone Marrow Stromal Stem Cells in Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Horm Metab Res* 48(11):700-713.
95. Racine J, Wang M, Zhang C, Lin CL, Liu H, Todorov I, et al. (2011). Induction of Mixed Chimerism With MHC-Mismatched But Not Matched Bone Marrow Transplants Results in Thymic Deletion of Host-Type Autoreactive T-Cells in NOD Mice. *Diabetes*, 60:555–564.
96. Rahmati M, Keshvari M, Mirnasuri S, Yon DK, Lee SW, Il Shin J, Smith L. (2022). The global impact of COVID-19 pandemic on the incidence of pediatric new-onset type 1 diabetes and ketoacidosis: A systematic review and meta-analysis. *J Med Virol* 94(11):5112-5127.
97. Rankin SA, McCracken KW, Luedeke DM, Han L, Wells JM, Shannon JM, Zorn AM. (2018). Timing is everything: reiterative Wnt, BMP and RA signaling regulate developmental competence during endoderm organogenesis. *Dev Biol* 434:121–132. doi:10.1016/j.ydbio.2017.11.018.
98. Rezaia A, Bruin JE, Arora P, Rubin A, Batushansky I, Asadi A, et al. (2014). Reversal of Diabetes With Insulin-Producing Cells Derived In Vitro From Human Pluripotent Stem Cells. *Nat Biotechnol*, 32:1121–1133. doi:10.1038/nbt.3033.
99. Rezza A, Sennett R, Rendl M. (2014). Adult stem cell niches: cellular and molecular components. *Curr Top Dev Biol* 107:333-372.
100. Rhee M, Lee S-H, Kim J-W, Ham D-S, Park H-S, Yang HK, et al. (2016). Preadipocyte factor 1 induces pancreatic ductal cell differentiation into insulin-producing cells. *Sci Rep*, 6:23960. doi:10.1038/srep23960.

101. Robertson RP, Davis C, Larsen J, Stratta R, Sutherland DE. (2006). Pancreas and islet transplantation in type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 29(4):935-940. doi:10.2337/diacare.29.04.06.dc05-2415.
102. Rooman I, Bouwens L. (2004). Combined gastrin and epidermal growth factor treatment induces islet regeneration and restores normoglycaemia in C57Bl6/J mice treated with alloxan. *Diabetologia*, 47:259–265. doi:10.1007/s00125-003-1287-1.
103. Rosado-Olivieri EA, Anderson K, Kenty JH, Melton DA. (2019). YAP inhibition enhances the differentiation of functional stem cell-derived insulin-producing β cells. *Nat Commun* 10:1464. doi:10.1038/s41467-019-09404-6.
104. Rovira M, Scott SG, Liss AS, Jensen J, Thayer SP, Leach SD. (2010). Isolation and characterization of centroacinar/terminal ductal progenitor cells in adult mouse pancreas. *Proc Natl Acad Sci USA*, 107:75–80. doi:10.1073/pnas.0912589107.
105. Sacchetti B, Funari A, Michienzi S, Di Cesare S, Piersanti S, Saggio I, et al. (2007). Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment. *Cell*, 131:324-336.
106. Sacchetti B, Funari A, Remoli C, Giannicola G, Kogler G, Liedtke S (2016). No Identical "Mesenchymal Stem Cells" at Different Times and Sites: Human Committed Progenitors of Distinct Origin and Differentiation Potential Are Incorporated as Adventitial Cells in Microvessels. *Stem Cell Reports*, 6:897-913.
107. Schneiderman N, Llabre M, Cowie CC, Barnhart J, Carnethon M, Gallo LC, et al. (2014). Prevalence of diabetes among Hispanics/Latinos from diverse backgrounds: the Hispanic community health study/study of Latinos (HCHS/SOL). *Diabetes Care*, 37:2233–2239. doi:10.2337/dc13-2939.
108. Shapiro AMJ, Ricordi C, Hering BJ. (2005). Clinical islet transplantation in type 1 diabetes mellitus: current status and future directions. *Diabetes Care*, 28(4):911-922. doi:10.2337/diacare.28.4.911.
109. Shapiro, A.M.J., Pokrywczynska, M., Ricordi, C. (2017) Clinical pancreatic islet transplantation. *Nat. Rev. Endocrinol.*; 13: 268–277.
110. Sharma A, Rani R. (2017). Do we really need to differentiate mesenchymal stem cells into insulin-producing cells for attenuation of the autoimmune responses in type 1 diabetes: immunoprophylactic effects of precursors to insulin-producing cells. *Stem Cell Res Ther*, 8:167. doi:10.1186/s13287-017-0615-1.
111. Sharon N, Chawla R, Mueller J, Vanderhooft J, Whitehorn LJ, Rosenthal B, et al. (2019). A Peninsular structure coordinates asynchronous differentiation with morphogenesis to generate pancreatic islets. *Cell*, 176:790–804. doi:10.1016/j.cell.2018.12.003.

112. Sharon N, Vanderhooft J, Straubhaar J, Mueller J, Chawla R, Zhou Q, Engquist EN, Trapnell C, Gifford DK, Melton DA. (2019). Wnt signaling separates the progenitor and endocrine compartments during pancreas development. *Cell Rep* 27:2281–2291.e5. doi:10.1016/j.celrep.2019.04.083.
113. Shi, Y., Inoue, H., Wu, J.C., Yamanaka, S. Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2017; 16: 115–130.
114. Skurikhin EG, Pakhomova AV, Epanchintsev AA, Stronin OV, Ermakova NN, Pershina OV, et al. (2018). Role of β cell precursors in the regeneration of insulin-producing pancreatic β cells under the influence of glucagon-like peptide 1. *Bull Exp Biol Med*, 165:644–648. doi:10.1007/s10517-018-4232-5.
115. Sloan AJ, Waddington RJ. (2009). Dental pulp stem cells: what, where, how? *Int J Paediatr Dent* 19(1):61-70.
116. Sneddon JB, Tang Q, Stock P, Bluestone JA, Roy S, Desai T, et al. (2018). Stem Cell Therapies for Treating Diabetes: Progress and Remaining Challenges. *Cell Stem Cell* 22(6):810–23. doi: 10.1016/j.stem.2018.05.016.
117. Solis MA, Wei Y-H, Chang C-H, Yu C-H, Kuo P-L, Huang LLH. (2016). Hyaluronan upregulates mitochondrial biogenesis and reduces adenosine triphosphate production for efficient mitochondrial function in slow-proliferating human mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 34:2512–2524. doi:10.1002/stem.2404.
118. Southard SM, Kotipatruni RP, Rust WL. (2018). Generation and selection of pluripotent stem cells for robust differentiation to insulin-secreting cells capable of reversing diabetes in rodents. *PLoS ONE*, 13. doi:10.1371/journal.pone.0203126.
119. Spencer ND, Chun R, Vidal MA, Gimble JM, Lopez MJ. (2011). Mesenchymal stromal cells: past, present, and future. *Vet Surg* 40(2):129-139.
120. Srivastava A, Dadheech N, Vakani M, Gupta S. (2018). Pancreatic resident endocrine progenitors demonstrate high islet neogenic fidelity and committed homing towards diabetic mice pancreas. *J Cell Physiol.* doi:10.1002/jcp.27568.
121. Steck AK, Rewers MJ. (2011). Genetics of type 1 diabetes. *Clin Chem* 57:176–185.
122. Stocum DL. (2001). Stem cells in regenerative biology and medicine. *Wound Repair Regen* 9(6):429-442.
123. Stocum DL. (2001). Stem cells in regenerative biology and medicine. *Wound Repair Regen* 9(6):429-442.
124. Sun B, Roh KH, Park JR, Lee SR, Park SB, Jung JW, Kang SK, Kang KS (2017). Stem cell therapy for diabetes mellitus using umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells: In vitro and preclinical studies. *Stem Cells Dev*, 26:565-577.

125. Sun X, Hao H, Han Q, Song X, Liu J, Dong L, et al. (2017). Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells ameliorate insulin resistance by suppressing NLRP3 inflammasome-mediated inflammation in type 2 diabetes rats. *Stem Cell Res Ther*, 8:241. doi:10.1186/s13287-017-0668-1.
126. Sun Y, Chen L, Hou XG, Hou WK, Dong JJ, Sun L, et al. (2007). Differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells from diabetic patients into insulin-producing cells in vitro. *Endocrine*, 31:309–317. doi:10.1097/00029330-200704010-00002.
127. Škrha J. (2022). ADA Standards of Medical Care in Diabetes 2022 - what's new? *Vnitr Lek* 68(2):85-88.
128. Tahbaz M, Yoshihara E. (2021). Immune Protection of Stem Cell-Derived Islet Cell Therapy for Treating Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)* 12:716625. doi:10.3389/fendo.2021.716625.
129. Takahashi K, Yamanaka S. (2006). Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell* 126(4):663-676.
130. Tang DQ, Cao LZ, Burkhardt BR, Xia CQ, Litherland SA, Atkinson MA, et al. (2004). In vivo and in vitro characterization of insulin-producing cells obtained from murine bone marrow. *Diabetes*, 53:1721–1732. doi:10.2337/diabetes.53.7.1721.
131. Thomson JA. (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282(5391):1145-1147.
132. Timper K, Seboek D, Eberhardt M, Linscheid P, Christ-Crain M, Keller U, et al. (2006). Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiate into insulin, somatostatin, and glucagon expressing cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 349:167–175. doi:10.1016/j.bbrc.2006.01.118.
133. Urbán VS, Kiss J, Kovács J, Gócza E, Vas V, Monostori É, et al. (2008). Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes. *Stem Cells*, 26:1057–1065. doi:10.1634/stemcells.2007-0387.
134. van Belle TL, Coppieters KT, von Herrath MG. (2011). Type 1 diabetes: etiology, immunology, and therapeutic strategies. *Physiol Rev* 91:79–118.
135. Veres A, Faust AL, Bushnell HL, Engquist EN, Kenty JH, Harb G, Poh YC, Sintov E, Gürtler M, Pagliuca FW, et al. (2019). Charting cellular identity during human in vitro β -cell differentiation. *Nature* 569:368–373. doi:10.1038/s41586-019-1168-5.
136. Voltarelli JC, Couri CE, Stracieri AB, Oliveira MC, Moraes DA, Pieroni F, et al. (2007). Autologous Nonmyeloablative Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Newly Diagnosed Type 1 Diabetes Mellitus. *JAMA*, 297:1568–1576.

137. Wang N, Rajasekaran N, Hou T, Macaubas C, Mellins ED (2015). Immunological Basis for Rapid Progression of Diabetes in Older NOD Mouse Recipients Post BM-HSC Transplantation. *PLoS ONE*, 10.
138. Wang, Shusen; Du, Yuanyuan; Zhang, Boya; et al. Transplantation of Chemically Induced Pluripotent Stem-Cell-Derived Islets Under Abdominal Anterior Rectus Sheath in a Type 1 Diabetes Patient. *Cell*, 2024; 187: 6152–6164. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2024.09.004>
139. Weissman IL. (2000). Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell* 100(1):157-168.
140. Wong TY, Chang CH, Yu CH, Huang LLH. (2017). Hyaluronan keeps mesenchymal stem cells quiescent and maintains the differentiation potential over time. *Aging Cell* 16:451–460. doi:10.1111/ace.12567.
141. Wu XH, Liu CP, Xu KF, Mao XD, Zhu J, Jiang JJ, et al. (2008). Reversal of hyperglycemia in diabetic rats by portal vein transplantation of islet-like cells generated from bone marrow. *World J Gastroenterol*, 14:3342–3348. doi:10.3748/wjg.14.3342.
142. Xiao Z, Mohamood AS, Uddin S, Gutfreund R, Nakata C, Marshall A, Kimura H, Caturegli P, Womer KL, Huang Y, Jie C, Chakravarti S, Schneck JP, Yagita H, Hamad AR. (2011). Inhibition of Fas ligand in NOD mice unmasks a protective role for IL-10 against insulinitis development. *Am J Pathol* 179:725–732.
143. Yang XF, Chen T, Ren LW, Yang L, Qi H, Li FR (2017). Immunogenicity of insulin-producing cells derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells. *Exp Ther Med*, 13:1456–1464. doi:10.3892/etm.2017.4096.
144. Yang YJ, Li XL, Xue Y, Zhang CX, Wang Y, Hu X, Dai Q. (2016). Bone marrow cells differentiation into organ cells using stem cell therapy. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 20(13):2899-2907.
145. Zhao Y, Jiang Z, Zhao T (2012). Reversal of type 1 diabetes via islet β cell regeneration following immune modulation by cord blood-derived multipotent stem cells. *BMC Med*, 10:3.
146. Zhu C, Ishikami S, Wang P, Zhao H, Li H. (2019). Optimal Design and Fabrication of Multichannel Helical Long-Period Fiber Gratings Based on Phase-Only Sampling Method. *Opt Express*, 27(3):2281–91. doi:10.1364/OE.27.002281.
147. Zorena K, Michalska M, Kurpas M, Jaskulak M, Murawska A, Rostami S. (2022). Environmental Factors and the Risk of Developing Type 1 Diabetes-Old Disease and New Data. *Biology (Basel)* 11(4).