

Karolina Piekarska¹,
Janusz Siebert¹,
Natalia Marek-Trzonkowska^{1, 2}

¹Katedra i Zakład Medycyny Rodzinnej,
Gdański Uniwersytet Medyczny
²Międzynarodowe Centrum Badań
nad Szczepionkami Przeciwnowotworowymi,
Cancer Immunology Group,
Gdański Uniwersytet Medyczny

Zastosowanie terapii komórkowych w leczeniu cukrzycy typu 1

Application of cellular therapies for the treatment of type 1 diabetes

STRESZCZENIE

Współcześnie obserwujemy wyraźny wzrost liczby zachorowań na cukrzycę typu 1. Z tego względu naukowcy oraz lekarze pracują nad nowymi terapiami, które pozwoliłyby zatrzymać rozwój lub całkowicie wyleczyć z cukrzycy typu 1. Wyniki terapii komórkowych z zastosowaniem komórek macierzystych, limfocytów T regulatorowych oraz wysp trzustkowych są obiecujące. Wszystkie poprawiają kontrolę glikemii, a niektóre z nich pozwalają nawet na uzyskanie długoterminowej niezależności od egzogennej insuliny.

Forum Medycyny Rodzinnej 2019, tom 13, nr 4, 176–181

Słowa kluczowe: cukrzyca typu 1, terapia komórkowa, komórki macierzyste, limfocyty T regulatorowe, przeszczepienie wysp trzustkowych

ABSTRACT

Nowadays, an increase in the number of new cases of type 1 diabetes has been observed. Therefore, the researchers and physicians have been working on new drugs that could stop development of type 1 diabetes or cure the existing disease. The results of cellular therapies based on stem cells, regulatory T-cells or pancreatic islets are promising. All procedures improve glycaemic control, and some of them eliminate the need for supply of exogenous insulin for a long term.

Forum Medycyny Rodzinnej 2019, tom 13, nr 4, 176–181

Key words: type 1 diabetes mellitus, cellular therapy, stem cells, regulatory T-cells, pancreatic islet transplantation

Adres do korespondencji:
Natalia Marek-Trzonkowska
Katedra i Zakład Medycyny Rodzinnej GUMed
ul. Dębinki 2, 80–210 Gdańsk
e-mail: natalia.marek@gumed.edu.pl

WSTĘP

Cukrzyca typu pierwszego (T1D, *type 1 diabetes*) jest chorobą autoimmunologiczną, w której zniszczeniu ulegają komórki β wysp trzustkowych. Początkowo choroba rozwija

się bezobjawowo. Proces autoimmunologiczny i związany z nim ubytek komórek β trzustki z reguły rozpoczyna się kilka lat przed kliniczną manifestacją cukrzycy. Objawy pojawiają się dopiero, gdy w trzustce pozostaje około

10–20% aktywnych komórek produkujących insulinę [1]. Wśród czynników ryzyka zachorowania na T1D wymienia się tło genetyczne, a także wpływ środowiska, między innymi ubogą mikroflorę jelitową, otyłość, wczesne wprowadzenie owoców do diety, spożywanie glutenu i dużych ilości produktów mlecznych u małych dzieci, niedobór witaminy D, zakażenie wirusami różyczki, świnki, cytomegalii, enterowirusami lub rotawirusami [2].

W Polsce notuje się najwyższy przyrost nowych przypadków cukrzycy u dzieci w Europie — zwłaszcza w grupie najmłodszych (< 5. rż.) [3]. Szacuje się, że naszym kraju w 2025 roku liczba nowych przypadków T1D u dzieci poniżej 15. roku życia wzrośnie do ponad 4800 rocznie [4]. Nieleczona cukrzyca jest chorobą śmiertelną, a podwyższone stężenie glukozy we krwi powoduje liczne powikłania (mikro- i makroangiopatie), dlatego ważne jest wczesne wykrycie choroby i ustabilizowanie stężenia glukozy. Konwencjonalną metodą leczenia jest postępowanie wyłącznie objawowe, które obejmuje substytucję egzogenną insuliną [2]. Na świecie prowadzi się badania mające na celu znalezienie nowego sposobu walki z cukrzycą. Warto zwrócić uwagę na liczne terapie komórkowe, które hamują rozwój cukrzycy lub zastępują komórki produkujące insulinę [5].

TERAPIE KOMÓRKOWE U PACJENTÓW ZE ŚWIEŻO ROZPOZNANĄ CUKRZYCĄ TYPU 1

■ Przeszczepienie autologicznych hematopoetycznych komórek macierzystych

Przeszczepienie własnych hematopoetycznych komórek macierzystych (aHSCT, *autologous hematopoietic stem cell transplantation*) poprzedza ablacja szpiku, która ma na celu wyeliminowanie autoreaktywnych limfocytów i w efekcie zatrzymanie procesu niszczenia wysp trzustkowych. Pierwsze badanie kliniczne przeprowadził Voltarelli i wsp. [6] u pacjentów ze zdiagnozowaną cukrzycą typu 1 w ciągu u pacjentów z cukrzycą typu 1 zdiagnozowaną w ciągu ostatnich 6 tygodni. Wśród kryteriów włączenia znalazły się dodatkowo

hiperglikemia na czczo i obecność przeciwciał przeciwko dekarboksylazie kwasu glutaminowego (anty-GAD, *anti-glutamic acid decarboxylase*). Epizod kwasicy ketonowej stanowił natomiast kryterium wykluczenia. W terapii stosowano autologiczne komórki macierzyste chorego pozyskiwane z krwi obwodowej w wyniku procesu leukaferazy po uprzedniej stymulacji czynnikiem stymulującym wzrost kolonii granulocytów (G-CSF, *granulocyte colony-stimulating factor*). Przed podażą komórek macierzystych pacjenci byli poddawani chemioterapii niemieloablacyjnej opartej na cyklofosfamidzie i globulinie antytymocytarnej. Wyniki przeprowadzonych badań są bardzo obiecujące, ponieważ 18 na 20 pacjentów uzyskało insulinoniezależność, która trwała od 2,5 do 46 miesięcy po przeszczepieniu. Stężenie hemoglobiny glikowanej (HbA_{1c}) przez cały okres obserwacji nie przekraczało 7%, a stężenie peptydu C wzrosło 6 miesięcy po przeszczepieniu i utrzymywało się przez 24 miesiące po podaniu komórek macierzystych. Potwierdzono ponadto bezpieczeństwo terapii. Oprócz typowych skutków ubocznych chemioterapii (tj. gorączka i nudności) odnotowano jednak jeden przypadek obustronnego zapalenia płuc, a u dwóch innych pacjentów — dysfunkcje endokrynologiczne: niedoczynność tarczycy i hipogonadyzm [7].

Bardzo dobre wyniki terapeutyczne aHSCT w leczeniu T1D uzyskał zespół naukowców z Warszawy [8], którzy poddali tej terapii 23 pacjentów i przedstawili bardzo cenne wyniki 6-letniej obserwacji. Niewątpliwym atutem tego badania klinicznego jest uwzględnienie grupy kontrolnej oraz uzupełnienie terapii etapami 2–3-krotnej plazmaferezy przed mobilizacją komórek macierzystych, aby usunąć krążące we krwi przeciwciała i kompleksy immunologiczne [9]. Pierwsze wyniki terapii były niezwykle obiecujące. Sześć miesięcy po przeszczepieniu spośród 23 chorych 22 nie wymagało podaży egzogennej insuliny [8]. Dalsze obserwacje wskazują jednak, że aHSCT daje najlepsze efekty terapeutyczne



**W Polsce notuje się
najwyższy przyrost
nowych przypadków
cukrzycy u dzieci
w Europie
— zwłaszcza w grupie
najmłodszych (< 5. rż.)**



aHSCT daje najlepsze efekty terapeutyczne przez pierwsze 4 lata



Mimo że żaden z leczonych pacjentów nie uzyskał insulinoniezależności, wykazano, że pacjentów poddanych terapii charakteryzowała istotnie wyższa sekrecja peptydu C



Dwóch spośród 12 pacjentów, którzy otrzymali limfocyty Treg, nie wymagało podaży egzogennej insuliny

przez pierwsze 4 lata — grupa badana miała wówczas statystycznie istotnie niższy poziom glikemii na czczo oraz wyższe stężenie peptydu C w porównaniu z grupą kontrolną. Mimo że w ciągu 6 lat od aHSCT u większości pacjentów poddanych terapii trzeba było ponownie włączyć leczenie insuliną, to jeden pacjent utrzymał insulinoniezależność przez cały okres obserwacji. Warto jednak zwrócić uwagę, że immunosupresja będąca elementem aHSCT wiąże się z poważnym ryzykiem i opisywano również przypadki zgonów po aHSCT w terapii T1D [8].

■ Mezenchymalne komórki macierzyste

Mezenchymalne komórki macierzyste (MSC, *mesenchymal stem cells*) to komórki progenitorowe, które mają zdolność do samoodnawiania i różnicowania się w różne linie komórek mezodermalnych, w tym adipocyty, osteocyty i chondrocyty w kontrolowanych warunkach hodowli. Źródłem bogatym w MSC jest szpik kostny, pępowina, tkanka tłuszczowa i łąčna [10]. Mezenchymalne komórki macierzyste wykazują właściwości immunomodulujące, między innymi poprzez hamowanie proliferacji i aktywacji cytotoksycznych limfocytów T, wzrost liczby limfocytów T regulatorowych oraz supresję produkcji cytokin prozapalnych. Dzięki tym właściwościom MSC zaczęto postrzegać jako narzędzie terapeutyczne, które można użyć do zahamowania rozwoju cukrzycy typu 1. W szwedzkich badaniach klinicznych z randomizacją wzięło udział dwudziestu dorosłych pacjentów ze świeżo zdiagnozowaną cukrzycą typu 1 [11]. Były to pierwsze badania wykazujące bezpieczeństwo oraz poprawę kontroli metabolicznej po przeszczepieniu MSC w T1D. W badaniu tym 10 pacjentów ze świeżo rozpoznaną TD1 leczonych insuliną otrzymało przeszczep autologicznych MSC pochodzących ze szpiku kostnego. Po roku obserwacji ich wyniki zestawiono z wynikami grupy kontrolnej, która przyjmowała jedynie insulinę. Mimo że żaden z leczonych pacjentów nie uzyskał insulinoniezależności, wykazano, że pacjentów

poddanych terapii charakteryzowała istotnie wyższa sekrecja peptydu C (co koreluje pozytywnie z sekrecją endogennej insuliny) w odpowiedzi na podanie posiłku (MMTT, *mixed-meal tolerance test*). Otrzymany efekt ma istotne znaczenie dla utrzymania prawidłowej glikemii i prewencji powikłań cukrzycowych. Wiadomo bowiem, że jak najdłuższe zachowanie aktywności komórek β trzustki, mierzone poziomem wydzielania peptydu C w testach dynamicznych (np. MMTT), chroni chorych na T1D przed epizodami zagrażającej życiu hipoglikemii oraz rozwojem powikłań naczyniowych [12]. Należy też nadmienić, że terapii nie towarzyszyły żadne działania niepożądane.

■ Limfocyty T regulatorowe

Komórki Treg (Treg, *regulatory T cells*) to niewielka populacja limfocytów T, które pełnią ważną rolę w utrzymaniu tolerancji immunologicznej, w tym hamują działanie komórek autoreaktywnych. Ich niedobór lub zaburzona funkcja to jedne z patomechanizmów chorób z autoagresji [13]. Naukowcy z Gdańska jako pierwsi wykorzystali właściwości immunosupresyjne limfocytów Treg w terapii T1D. Badania objęły dzieci ze świeżo rozpoznaną cukrzycą typu 1 (< 2 miesięcy) w wieku 8–16 lat. Terapia polegała na dożylnym wlewie limfocytów Treg pacjenta, które wcześniej izolowano z jego z krwi obwodowej i namnażano *in vitro* do terapeutycznie istotnych ilości (10–30 mln komórek/kg mc.). Limfocyty T regulatorowe izoluje się z krwi pacjenta i podaje z powrotem po ich namnożeniu do odpowiedniej ilości w trakcie hodowli *in vitro* [14]. Rok po terapii zaobserwowano, że dzieci, które zostały poddane leczeniu, charakteryzowało wyższe stężenie peptydu C i mniejsze zapotrzebowanie na egzogenną insulinę. Dwóch spośród 12 pacjentów, którzy otrzymali limfocyty Treg, nie wymagało podaży egzogennej insuliny [15]. Dłuższe obserwacje wskazują, że terapia komórkami Treg nie jest w stanie całkowicie zahamować progresji T1D. Obecnie wszyscy pacjenci poddani leczeniu otrzymują

insulinoterapię. Chorych, którzy przyjęli dwie dawki komórek Treg, charakteryzuje jednak istotnie wyższe stężenie peptydu C na czczo niż dzieci, które nie zostały poddane terapii. Fakt ten przekłada się bezpośrednio na zapotrzebowanie na egzogenną insulinę, które jest najniższe w grupie leczonej dwiema dawkami limfocytów Treg. Jednocześnie pacjenci ci uzyskali najlepszą kontrolę glikemii. Ponadto osoby poddane terapii komórkami Treg mają zachowaną poposiłkową sekrecję peptydu C (MMTT), podczas kiedy zjawisko to nie występuje u dzieci, które nie były leczone komórkami Treg. Najlepsze wyniki charakteryzują grupę, która otrzymała dwie dawki limfocytów Treg. Co więcej, zaobserwowano, że u dzieci nieleczonych doszło do znacznego wzrostu stężenia TNF- α (*tumor necrosis factor alfa*) w surowicy już w pierwszym roku od manifestacji T1D, podczas kiedy dwa lata od diagnozy w obu grupach leczonych komórkami Treg stężenie tej cytokiny w surowicy pozostaje bez zmian i jest kilkakrotnie niższe niż w grupie kontrolnej [16]. Mając na względzie, że TNF- α stanowi istotny czynnik ryzyka powikłań naczyniowych w T1D [17], a zachowanie sekrecji endogennej insuliny chroni przed rozwojem tych powikłań, należy się spodziewać, że pacjenci poddani terapii komórkami Treg nie rozwiną powikłań lub wystąpią one u nich znacznie później niż u osób, które nie otrzymały podobnego leczenia. Pełne potwierdzenie tych wniosków wymaga jednak wieloletnich obserwacji.

W 2015 roku pierwsze wyniki swoich badań nad zastosowaniem komórek Treg w terapii T1D opublikował również zespół ze Stanów Zjednoczonych. Były to badania I fazy, których wyniki potwierdziły bezpieczeństwo terapii komórkami Treg w T1D [18].

TERAPIE KOMÓRKOWE U PACJENTÓW Z WIELOLETNIĄ CUKRZYCĄ TYPU 1

■ Przeszczepienie wysp trzustkowych

W ciągu ostatnich lat, w niektórych krajach przeszczepienie wysp trzustkowych stało się rutynową procedurą kliniczną z przewidywalną

skutecznością dla wybranych pacjentów z T1D. Leczenie jest dedykowane osobom z niestabilną T1D, u których występują zagrażające życiu epizody hipoglikemii mimo prowadzonej insulinoterapii [19]. Wyspy trzustkowe zawierają zarówno komórki β , produkujące insulinę, jak i komórki α , produkujące glukagon. Wdzielenie obu hormonów zależy od stężenia glukozy we krwi i zachodzi antagonistycznie, przywracając fizjologiczną regulację glikemii. Wyspy trzustkowe są izolowane z trzustki pobranej od zmarłego dawcy i podawane w infuzji, zazwyczaj bezpośrednio do żyły wrotnej chorego przez cienki cewnik wprowadzony przezskórnie w znieczuleniu miejscowym. Przeszczepienie wysp trzustkowych może zapewnić choremu insulinoniezależność, lecz najczęściej pozwala na zmniejszenie dawek insuliny o 50–70%. Główną zaletą i efektem terapeutycznym tej metody jest wyeliminowanie niekontrolowanych napadów hipoglikemii. Większość pacjentów po kilku miesiącach otrzymuje drugi przeszczep wysp, który poprawia efekt terapeutyczny i często pozwala przerwać terapię egzogenną insuliną nawet na kilka lat. Chociaż przeszczepianie wysp jest uważane za bezpieczną procedurę (o znacznie mniejszym ryzyku niż transplantacja trzustki), wymaga stałego podawania leków immunosupresyjnych, z tego powodu nie jest stosowana u dzieci. Przeszczepienie wysp trzustkowych wykonuje się również u chorych cierpiących na przewlekłe zapalenie trzustki wymagających pankreatektomii. Wówczas, autoprzeszczep nie jest zagrożony odrzuceniem i nie wymaga stosowania leków immunosupresyjnych.

■ Przeszczepienie MSC wytwarzających insulinę w połączeniu z przeszczepieniem hematopoetycznych komórek macierzystych

Jak dotąd tylko jeden zespół badawczy zastosował podobną procedurę u człowieka. W Indiach grupę chorych na T1D poddano terapii, która polegała na podaży MSC oraz hematopoetycznych komórek macierzystych



Osoby poddane terapii komórkami Treg mają zachowaną poposiłkową sekrecję peptydu C



Przeszczepienie wysp trzustkowych może zapewnić choremu insulinoniezależność, lecz najczęściej pozwala na zmniejszenie dawek insuliny o 50–70%

”
Wyniki obserwacji trwającej średnio 3 miesiące od przeszczepienia wykazały wzrost stężenia peptydu C u wszystkich leczonych chorych, zmniejszenie zapotrzebowania na insulinę oraz poprawę kontroli glikemii

”
Lepsze wyniki terapeutyczne uzyskiwano u pacjentów z początkowo wyższym stężeniem peptydu C

(HSC, *hemapoietic stem cell*) pochodzących od spokrewnionego dawcy. Mezenchymalne komórki macierzyste użyte do terapii izolowano z tkanki tłuszczowej i hodowano *in vitro* w specjalnych warunkach, które pobudzały je do produkcji insuliny. Ze szpiku kostnego tych samych dawców pobierano ponadto HSC. W tym samym czasie biorców poddawano łagodnemu niemieloablacyjnemu kondycjonowaniu, które obejmowało napromieniowanie oraz zastosowanie przeciwciał skierowanych przeciw limfocytom T i B. Tak przygotowanym biorcom podawano jednocześnie modyfikowane MSC oraz HSC w infuzji do żyły wrotnej. W pierwszym badaniu klinicznym, powyższej terapii poddano 5 pacjentów w wieku < 30 lat z wykrywalnym peptydem C w surowicy i TD1 trwającą od 6 miesięcy do 10 lat. Wyniki obserwacji trwającej średnio 3 miesiące od przeszczepienia wykazały wzrost stężenia peptydu C u wszystkich leczonych chorych, zmniejszenie zapotrzebowania na insulinę oraz poprawę kontroli glikemii, zwłaszcza u pacjentów z najwyższym stężeniem HbA_{1c} przed terapią. Badacze nie zaobserwowali żadnych działań niepożądanych terapii [20].

Ten sam zespół opisał ponadto 2 przypadki pacjentów z T1D trwającą 6 i 11 lat, której towarzyszyły nawracające epizody kwasicy ketonowej [21]. Przed przeszczepieniem pacjenci otrzymali bortezomib, metylprednizon oraz króliczą globulinę antytymocytarną. Mezenchymalne komórki macierzyste i HSC podawano równocześnie do krążenia wrotnego, grasicy oraz w podskórną tkankę tłuszczową brzucha. Okres obserwacji wynosił odpowiednio 13,8 oraz 23 miesiące. U leczonych pacjentów doszło do istotnego wzrostu stężenia peptydu C, co umożliwiło trzykrotne zmniejszenie dobowej dawki insuliny przy jednocześnie lepszej kontroli glikemii.

Wyniki te są bardzo obiecujące, jednak do oceny bezpieczeństwa i efektywności potrzeba większej liczby badań.

PODSUMOWANIE

Wszystkie próby kliniczne mające na celu zahamowanie rozwoju T1D jedynie spowolniały jej progresję. Ich niewątpliwym sukcesem jest przedłużenie produkcji endogennej insuliny, co pozwala na utrzymanie lepszej kontroli glikemii oraz chroni pacjentów przed rozwojem powikłań cukrzycowych. Lepsze wyniki terapeutyczne uzyskiwano u pacjentów z początkowo wyższym stężeniem peptydu C. Z tego względu dla powodzenia podobnych terapii kluczowe jest maksymalnie szybkie ich rozpoczęcie od momentu rozpoznania T1D.

Sprawdzoną opcją terapeutyczną dla chorych z niestabilną T1D jest obecnie przeszczepienie wysp trzustkowych. Wciąż prowadzi się badania nad stworzeniem komórek produkujących insulinę, które być może wyeliminują w przyszłości problem T1D.

PIŚMIENNICTWO

1. Atkinson MA. The pathogenesis and natural history of type 1 diabetes. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012; 2(11), doi: [10.1101/cshperspect.a007641](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007641), indexed in Pubmed: [23125199](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23125199/).
2. Saberzadeh-Ardestani B, Karamzadeh R, Basiri M, et al. Type 1 Diabetes Mellitus: Cellular and Molecular Pathophysiology at A Glance. *Cell J.* 2018; 20(3): 294–301, doi: [10.22074/cellj.2018.5513](https://doi.org/10.22074/cellj.2018.5513), indexed in Pubmed: [29845781](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29845781/).
3. Patterson CC, Dahlquist GG, Gyürüs E, et al. EURO-DIAB Study Group. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989–2003 and predicted new cases 2005–20: a multicentre prospective registration study. *Lancet.* 2009; 373(9680): 2027–2033, doi: [10.1016/S0140-6736\(09\)60568-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60568-7), indexed in Pubmed: [19481249](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19481249/).
4. Jarosz-Chobot P, Polanska J, Szadkowska A, et al. Rapid increase in the incidence of type 1 diabetes in Polish children from 1989 to 2004, and predictions for 2010 to 2025. *Diabetologia.* 2011; 54(3): 508–515, doi: [10.1007/s00125-010-1993-4](https://doi.org/10.1007/s00125-010-1993-4), indexed in Pubmed: [21165594](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21165594/).
5. Lee DD, Grossman E, Chong AS. Cellular therapies for type 1 diabetes. *Horm Metab Res.* 2008; 40(2): 147–154, doi: [10.1055/s-2008-1042430](https://doi.org/10.1055/s-2008-1042430), indexed in Pubmed: [18283633](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18283633/).
6. Couri CEB, Oliveira MCB, Stracieri AB, et al. Autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. *JAMA.* 2007; 297(14): 1568–1576, doi: [10.1001/jama.297.14.1568](https://doi.org/10.1001/jama.297.14.1568), indexed in Pubmed: [17426276](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17426276/).
7. Voltarelli JC, Couri CEB, Stracieri AB, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation for type 1 diabetes. *Ann N Y Acad Sci.* 2008; 1150: 220–229,

- doi: [10.1196/annals.1447.048](https://doi.org/10.1196/annals.1447.048), indexed in Pubmed: [19120300](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19120300/).
8. Walicka M, Milczarczyk A, Snarski E, et al. Lack of persistent remission following initial recovery in patients with type 1 diabetes treated with autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Diabetes Res Clin Pract.* 2018; 143: 357–363, doi: [10.1016/j.diabres.2018.07.020](https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.07.020), indexed in Pubmed: [30036612](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30036612/).
 9. Snarski E, Milczarczyk A, Torosian T, et al. Independence of exogenous insulin following immunoablation and stem cell reconstitution in newly diagnosed diabetes type I. *Bone Marrow Transplant.* 2011; 46(4): 562–566, doi: [10.1038/bmt.2010.147](https://doi.org/10.1038/bmt.2010.147), indexed in Pubmed: [20581881](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20581881/).
 10. Pikula M, Marek-Trzonkowska N, Wardowska A, et al. Adipose tissue-derived stem cells in clinical applications. *Expert Opin Biol Ther.* 2013; 13(10): 1357–1370, doi: [10.1517/14712598.2013.823153](https://doi.org/10.1517/14712598.2013.823153), indexed in Pubmed: [23919743](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23919743/).
 11. Carlsson PO, Schwarcz E, Korsgren O, et al. Preserved β -cell function in type 1 diabetes by mesenchymal stromal cells. *Diabetes.* 2015; 64(2): 587–592, doi: [10.2337/db14-0656](https://doi.org/10.2337/db14-0656), indexed in Pubmed: [25204974](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25204974/).
 12. Bhatt MP, Lee YJ, Jung SH, et al. C-peptide protects against hyperglycemic memory and vascular endothelial cell apoptosis. *J Endocrinol.* 2016; 231(1): 97–108, doi: [10.1530/JOE-16-0349](https://doi.org/10.1530/JOE-16-0349), indexed in Pubmed: [27554111](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27554111/).
 13. Grant CR, Liberal R, Mieli-Vergani G, et al. Regulatory T-cells in autoimmune diseases: challenges, controversies and — yet — unanswered questions. *Autoimmun Rev.* 2015; 14(2): 105–116, doi: [10.1016/j.autrev.2014.10.012](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2014.10.012), indexed in Pubmed: [25449680](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25449680/).
 14. Marek-Trzonkowska N, Myśliwiec M, Dobyszuk A, et al. Administration of CD4+ CD25highCD127- regulatory T cells preserves β -cell function in type 1 diabetes in children. *Diabetes Care.* 2012; 35(9): 1817–1820, doi: [10.2337/dc12-0038](https://doi.org/10.2337/dc12-0038), indexed in Pubmed: [22723342](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22723342/).
 15. Marek-Trzonkowska N, Myśliwiec M, Dobyszuk A, et al. Therapy of type 1 diabetes with CD4(+)CD25(high)CD127-regulatory T cells prolongs survival of pancreatic islets - results of one year follow-up. *Clin Immunol.* 2014; 153(1): 23–30, doi: [10.1016/j.clim.2014.03.016](https://doi.org/10.1016/j.clim.2014.03.016), indexed in Pubmed: [24704576](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24704576/).
 16. Marek-Trzonkowska N, Myśliwiec M, Iwaszkiewicz-Grześ D, et al. Factors affecting long-term efficacy of T regulatory cell-based therapy in type 1 diabetes. *J Transl Med.* 2016; 14(1): 1–11, doi: [10.1186/s12967-016-1090-7](https://doi.org/10.1186/s12967-016-1090-7), indexed in Pubmed: [27903296](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27903296/).
 17. Behl Y, Krothapalli P, Desta T, et al. Diabetes-enhanced tumor necrosis factor- α production promotes apoptosis and the loss of retinal microvascular cells in type 1 and type 2 models of diabetic retinopathy. *Am J Pathol.* 2008; 172(5): 1411–1418, doi: [10.2353/ajpath.2008.071070](https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.071070), indexed in Pubmed: [18403591](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18403591/).
 18. Bluestone JA, Buckner JH, Fitch M, et al. Type 1 diabetes immunotherapy using polyclonal regulatory T cells. *Sci Transl Med.* 2015; 7(315): 1–34, doi: [10.1126/scitranslmed.aad4134](https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aad4134), indexed in Pubmed: [26606968](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26606968/).
 19. Shapiro AM, Pokrywczynska M, Ricordi C. Clinical pancreatic islet transplantation. *Nat Rev Endocrinol.* 2017; 13(5): 268–277, doi: [10.1038/nrendo.2016.178](https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.178), indexed in Pubmed: [27834384](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27834384/).
 20. Trivedi HL, Vanikar AV, Thakker U, et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells combined with hematopoietic stem cell transplantation synthesize insulin. *Transplant Proc.* 2008; 40(4): 1135–1139, doi: [10.1016/j.transproceed.2008.03.113](https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2008.03.113), indexed in Pubmed: [18555133](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18555133/).
 21. Dave SD, Trivedi HL, Chooramani SG, et al. Management of type 1 diabetes mellitus using in vitro autologous adipose tissue trans-differentiated insulin-making cells. *BMJ Case Rep.* 2013; 2013, doi: [10.1136/bcr-2013-200226](https://doi.org/10.1136/bcr-2013-200226), indexed in Pubmed: [23893283](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23893283/).