

Nutrição Brasil 2016;15(3):169-175

REVISÃO

Tratamento do diabetes mellitus do tipo 1 com células tronco *Type 1 diabetes mellitus treatment with stem cells*

Ana Paula de Campos, Débora Cristina Damasceno, Yuri Karen Sinzato*

**Laboratório de Pesquisa Experimental de Ginecologia e Obstetrícia, Programa de Pós-graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia, Faculdade de Medicina de Botucatu_Unesp, Botucatu, São Paulo*

Recebido 12 de fevereiro de 2016; aceito 15 de abril de 2016.

Endereço para correspondência: Profa. Dra. Yuri Karen Sinzato, Lab. Pesquisa Experimental de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Botucatu_Unesp, Distrito de Rubião Júnior s/n, 18618-970 Botucatu SP, E-mail: yuri_sinzato@yahoo.com.br, Ana Paula de Campos, ana.campos.btu@gmail.com, Débora Cristina Damasceno, damascenofmb@gmail.com

Resumo

Diabetes mellitus (DM) é uma doença crônica caracterizada pela alta taxa de glicose no sangue e que, a longo prazo, pode ocasionar complicações e sérios danos ao coração, vasos sanguíneos, olhos, rins e nervos. A incidência de indivíduos portadores de diabetes tem aumentado no mundo todo. O diabetes pode ser classificado em três diferentes categorias: DM tipo 1, DM tipo 2 e DM gestacional. O atual avanço no conhecimento e utilização das células-tronco tem se mostrado eficaz e promissor no tratamento de algumas doenças, em especial do DM1. O tratamento empregado para o DM1 é a administração de insulina, que controla a glicemia dos pacientes. No entanto, o tratamento com insulina não leva à restauração das células beta-pancreáticas e não evita o aparecimento de complicações secundárias de forma definitiva. O transplante de ilhotas pancreáticas como alternativa tem como limitação o uso de terapia imunossupressora, a rejeição imune e a falta de doadores do órgão. Dessa forma essa atualização relata estudos que proporcionam o desenvolvimento de células beta pancreáticas, responsáveis pela síntese e secreção de insulina, a partir de células-tronco para tratamento do DM1.

Palavras-chave: diabetes, células-tronco embrionárias, hiperglicemia, pâncreas.

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a chronic disease characterized by high glucose levels in the blood and in the long term, can cause complications and serious damage to the heart, blood vessels, eyes, kidneys and nerves. The incidence of patients with diabetes has increased worldwide. Diabetes can be classified into three different categories: type 1 diabetes, type 2 diabetes and gestational diabetes. The current advance in knowledge and use of stem cells has been proven effective and promising in the treatment of some diseases, especially of DM1. The treatment used for DM1 is the administration of insulin, which controls blood glucose levels of patients. However, insulin treatment does not lead to restoration of pancreatic beta cells and does not avoid the onset of secondary complications permanently. The islet transplantation as an alternative is limited by the use of immunosuppressive therapy, immune rejection and lack of organ donors. Thus, this update reports studies which provide the development of pancreatic beta cells responsible for synthesis and secretion of insulin from stem cells for treatment of DM1.

Key-words: diabetes, embryonic stem cells, hyperglycemia, pancreas.

Introdução

A incidência de indivíduos portadores de diabetes tem aumentado no mundo todo, especialmente em países em desenvolvimento. Esse aumento pode estar relacionado à alta taxa de obesidade e inatividade física, além de ganho excessivo de peso [1]. No mundo, cerca de 9% de adultos com 18 anos ou mais são diabéticos [2]. No Brasil o índice de pessoas com diabetes chega a 6,2% [3].

Diabetes mellitus (DM) é uma doença crônica caracterizada pela alta taxa de glicose no sangue e que, a longo prazo, pode ocasionar complicações e sérios danos ao coração, vasos

sanguíneos, olhos, rins e nervos [4,5]. DM pode ser classificado em três diferentes categorias: DM tipo 1, DM tipo 2 e DM Gestacional [5]. DM 1 é responsável por 5% a 10% dos casos de diabetes, é caracterizado pela destruição autoimune das células beta-pancreáticas produtoras de insulina do pâncreas [5,6]. A destruição das células beta (β) ocorre pela agressão das células linfocitárias, macrófagos e células natural killer do sistema imunológico do próprio indivíduo, provocando assim um estado de hiperglicemia prolongada [7]. Esse tipo de diabetes pode ser causado por predisposições genéticas múltiplas, mas também pode estar relacionado a fatores ambientais ainda mal definidos [5]. DM 2 é o tipo de diabetes mais frequente, responsável por 90% a 95% dos casos. A doença é caracterizada por defeitos na secreção e ação da insulina. As causas do DM 2 são multifatoriais, e fatores como a idade, sedentarismo e obesidade aumentam o risco de desenvolvimento do DM2 [5].

O *Diabetes mellitus* gestacional é caracterizado por um quadro de intolerância à glicose diagnosticado em mulheres no segundo ou terceiro trimestre de gravidez [5]. No Brasil, o índice de mulheres com DM gestacional está entre 2,4% e 7,2%, dependendo do critério utilizado para diagnóstico [8]. Esse tipo de diabetes pode elevar os riscos de complicações nas mulheres durante o período gestacional e/ou durante o parto [9].

Para controlar a hiperglicemia advinda de diferentes categorias do diabetes, alguns tratamentos estão sendo estudados e aplicados. No DM2, a redução de peso e/ou tratamento farmacológico para controlar a glicemia são opções que melhoram a resistência à insulina causada pela doença, mas raramente levam a uma restauração normal [5]. Para o DM gestacional, a insulina, dieta, exercício e acompanhamento pré-natal também são recomendados para o tratamento desse tipo de diabetes [10]. O DM1 é tratado com a administração de insulina. Apesar das opções de tratamento, nenhuma oferece resolução definitiva da doença e não evita que complicações futuras possam ocorrer em órgãos importantes [11].

Frente ao alto custo com medicamentos e complicações secundárias decorrentes da falta de controle adequado da glicemia, outro tratamento que está sendo discutido amplamente tanto para o DM1, quanto para alguns casos de DM2 [12], é o transplante de pâncreas ou de ilhotas pancreáticas. Para isso, muitos estudos foram realizados e continuam a ser testados em ensaios experimentais e investigações pré-clínicas. Um dos estudos pioneiros foi o protocolo de Edmonton, que descreve o transplante de ilhotas humanas de cadáveres combinado com terapia imunossupressora. No início os resultados foram promissores, mas a síntese de insulina foi gradualmente diminuindo ao longo do tempo e a terapia com insulina exógena, embora com doses mais baixas, teve que permanecer na maioria dos pacientes [13]. Apesar desses resultados, existe limitação deste tipo de tratamento pela falta de doadores de pâncreas advindo de cadáveres [14-16]. Além desse fator, a necessidade dos pacientes à terapia imunossupressora também é limitante [17,18]. Visando desenvolver terapias alternativas para tratamento efetivo e acessível para o DM1, estudos tem se concentrado no desenvolvimento de células beta pancreáticas, responsáveis pela síntese e secreção de insulina, a partir de células precursoras primitivas - as células-tronco [17-22].

As células-tronco são células indiferenciadas caracterizadas pela capacidade de autorrenovação a longo prazo e pluripotência, que é a habilidade de se diferenciar em um ou mais tipos de células especializadas [23,24].

As células-tronco podem ser classificadas em embrionárias, fetais, do cordão umbilical e adultas [25]. As células-tronco embrionárias, denominadas totipotentes, podem gerar um novo indivíduo e possuem essa característica até a fase anterior à formação do blastocisto [26]. A partir da formação do blastocisto, as células-tronco são denominadas pluripotentes, as quais possuem alta capacidade de gerar qualquer tipo de célula fetal e adulta *in vivo* e *in vitro* [23]. Após esse período, as células já se tornam especializadas [27]. As células-tronco fetais também são pluripotentes e dão origem a todos os tecidos antes do nascimento. As células-tronco do cordão umbilical são geneticamente idênticas às do recém-nascido, mas diferenciam-se em um número limitado de tipos celulares e, por essa característica, são denominadas multipotentes. As células-tronco adultas também são denominadas multipotentes, indiferenciadas, raras, encontradas nos tecidos que são responsáveis pela regeneração tecidual durante a vida e importantes na manutenção da integridade dos tecidos como pele, osso e sangue. Possuem plasticidade, que é a característica de se diferenciar em outro tipo de tecido dependendo das condições de crescimento e diferenciação [25].

Estudos promissores mostram a diferenciação de células-tronco embrionárias humanas em células β -pancreáticas, que sintetizam insulina para o tratamento de DM1 [17,18,20,28-30]. Há protocolos estabelecidos sobre a diferenciação de células-tronco embrionárias humanas em

células β *in vitro*, embasados no processo da organogênese do pâncreas de organismos modelos realizados em camundongos e ratos [17,20,30,31]. Porém, apesar do sucesso na geração de células β -pancreáticas a partir de células-tronco embrionárias humanas *in vitro*, essas células só apresentaram marcadores funcionais de diferenciação em célula β madura [insulina, glucagon, pró-hormônio convertase 1/3 peptídeo-C, polipeptídeo amilóide e transportador de zinco 8 (ZNT8)] após 8 meses pós-transplante [31].

Alguns estudos com células-tronco mesenquimais adultas mostram que estas apresentam grande potencial para tratamento do DM1, uma vez que essas células são hipoinmunogênicas e bem toleradas [32,33]. No entanto, somente a terapia com este tipo celular pode não ser eficaz para reverter a autoimunidade do DM1 e o uso de drogas imunossupressoras pode ser necessário [33].

Todas as linhagens de células-tronco têm grande potencial terapêutico. O uso de células-tronco adultas evita as questões éticas envolvidas na pesquisa com células tronco embrionárias e poderia evitar a rejeição imune no caso de transplante autólogo. Já, as células-tronco embrionárias podem ser empregadas em um número muito maior de aplicações do que as adultas. Além disso, teoricamente, tem a vantagem de não induzir a rejeição devido estado imune privilegiado por serem altamente indiferenciadas. No entanto, essa teoria ainda não foi comprovada. Outra vantagem das células-tronco embrionárias é que elas podem ser cultivadas indefinidamente *in vitro* enquanto que as adultas apresentam capacidade limitada [34].

Tendo em vista os avanços da utilização de células-tronco para tratamento do DM1, essa revisão tem por objetivo discutir as recentes pesquisas em terapias com células-tronco embrionárias para o DM1.

Fonte de dados

Para a revisão, foi feita uma pesquisa no site *National Center of Biotechnology Information* (NCBI – PUBMED) com as seguintes palavras-chave: *treatment, type 1 diabetes, embryonic, stem cells*. Foi realizada uma busca em um período de 5 anos (2010-2015) e foram encontrados 81 artigos, os quais foram analisados com base nos títulos. Dos 81 artigos, 20 foram eliminados por não abordarem assuntos coerentes com a pesquisa e, dos 61 artigos com títulos coerentes, os resumos foram lidos. Destes, 47 foram lidos integralmente e analisados, mas 12 não foram lidos como *full text* porque não foi possível obter o texto completo e 2 não apresentavam o texto completo. Após análise dos textos completos dos 47 artigos lidos, 10 deles foram excluídos da pesquisa por não abordarem o tema esperado. Desta forma, foram incluídos 37 artigos na revisão completa.

Atualização

O tratamento empregado para o DM1 é a administração de insulina, que controla a glicemia dos pacientes. No entanto, não restaura as ilhotas pancreáticas como de um indivíduo normal e não impede o aparecimento de complicações secundárias de forma definitiva. Outra abordagem sugerida é o transplante de ilhotas pancreáticas, no entanto a maioria dos trabalhos relata a falta de doadores do órgão. Como alternativa estudos tem se concentrado na utilização de células-tronco embrionárias para tratamento do DM1 [17,18,20,28-30].

Para a utilização das células-tronco embrionárias no tratamento do DM1, a abordagem inicial foi a obtenção de um meio para diferenciar essas células em células β produtoras de insulina ou células capazes de produzir insulina em resposta à glicose do sangue. A maioria dos protocolos e revisões descreve diferenciação *in vitro* de células-tronco embrionárias com base na organogênese do pâncreas de organismos modelos [17,20,30,31,35-39]. No entanto, utilizam as células em estágio diferentes de diferenciação. Uma das revisões revela que células-tronco embrionárias diferenciadas até células progenitoras pancreáticas possuem vantagens em relação às células diferenciadas para produção de insulina *in vitro*, pois essas não respondem adequadamente à estimulação de glicose *in vivo*, mostrando que ainda não atingiram funcionalidade semelhante às células β maduras [40]. Alguns protocolos também apontam imaturidade e baixa resposta à estimulação de glicose nas células diferenciadas *in vitro*, apesar de apresentarem produção de insulina [17,30]. Para solucionar o problema dessas células, alguns estudos sugerem a implantação dessas células *in vivo*, pois apresentam maturação e conseqüentemente uma melhor resposta a estímulo de glicose [17,28,41].

Porém, apesar da produção de células β , para que o tratamento com células-tronco embrionárias diferenciadas fosse aplicado em paciente com DM1, as células precisavam ainda

ser protegidas do sistema imunológico do indivíduo. Para isso, o encapsulamento dessas células foi proposto por grande parte dos estudos [14,28,42,44-48] e sua utilização parece ser promissora quando transplantada em ratos e camundongos, mostrando que as células transplantadas se tornam maduras e respondem adequadamente à estimulação de glicose [48]. O estudo de Motté *et al.* [48] aponta que células encapsuladas implantadas em ratos mostrou uma baixa produção de insulina e resposta à glicose quando comparadas às ilhotas humanas. Embora seja uma solução eficaz, Cechin *et al.* [49] apontam algumas falhas, como o risco de lesões teratogênicas pelo fato das células não serem maduras suficientemente, o longo prazo da maturação das células, além de apontar que a maturação *in vivo* em um microambiente humano poderia não ser permissivo como é em roedores. Para solução do problema, Cechin *et al.* [49] propõem assim que a modulação de oxigênio possa ter um efeito drástico na diferenciação de células β a partir de células-tronco embrionárias humanas, e relata que *in vivo* com o aumento da oxidação no estágio final de diferenciação, se obtém um ambiente mais permissivo para enxertos de progenitores pancreáticos para maturação em células β , mas que não impede o aparecimento de teratomas. *In vitro*, é relatado que o nível de pressão parcial fisiológica (observada em ilhotas maduras) é ideal para criar o ambiente de desenvolvimento observado *in vivo* e se obtiver aumento na diferenciação de células β . Apesar da melhoria, os pesquisadores reconhecem que refinamentos são necessários para alcançar a maturação completa de células β diferenciadas *in vitro*. O estudo de Guo *et al.* [50] teve uma abordagem parecida, no entanto aqui os pesquisadores relataram fatores de expressões observados nas células progenitoras pancreáticas do mesênquima de ratos. Então, a ideia foi aplicar esses fatores de expressão na diferenciação *in vitro* de células-tronco embrionárias humanas, porém, só foi constatado um aumento das células progenitoras pancreáticas, os pesquisadores acreditam que uma recapitulação mais aprofundada dos fatores expressos poderia otimizar as fases finais da diferenciação de células-tronco embrionárias em células β .

Apesar de todas as conquistas, tanto a diferenciação como a implantação do tratamento ainda requerem mais estudos e avanços, algumas revisões abordam diversas dificuldades, riscos e limitações que o tratamento com células-tronco embrionárias apresenta. Algumas dessas dificuldades podem ser reveladas na incapacidade já citada acima de gerar células β totalmente maduras *in vitro* [38,41], a necessidade de uma produção relativamente alta de células-tronco diferenciadas e a capacidade de preservá-las [46]. Mesmo apesar de já haver estudos para a alta produção em escala de células-tronco diferenciadas, como mostra uma das revisões, ainda há necessidade de melhorias [18]. Os métodos para diferenciar as células-tronco também limitam a grande produção dessas células e não foi possível a geração de células β *in vitro* que respondem à estimulação de glicose [51], e o risco de lesões teratogênicas [49].

Em respostas aos diversos problemas com células-tronco embrionárias, pode-se observar a busca por novos meios de tratar o DM1 com outros tipos de células-tronco [52-55]. As células-tronco pluripotentes induzidas são células produzidas em laboratório através da reprogramação de células adultas, fazendo com que essas células voltem a se tornar células pluripotentes embrionárias. A indução dessas células é feita por estímulo químico pela reprogramação do código genético dessas células a partir de um vírus – transdução do código genético com um retrovírus contendo quatro fatores de transcrição, Oct4, Sox2, Klf4 e c-myc, que são geralmente expressas em células-tronco embrionárias [46]. O material genético do retrovírus é inserido no DNA da célula adulta para que esta volte ao estágio de célula-tronco embrionária [27].

Uma das revisões relata a vantagem da utilização de células-tronco pluripotentes induzidas em relação às células-tronco embrionárias, já que sua obtenção é menos burocrática e oferece a solução de problemas de rejeição imunológica quando transplantadas, uma vez que as células-tronco pluripotentes induzidas podem ser obtidas do próprio indivíduo [51]. Entretanto, embora a utilização de células-tronco pluripotentes seja positiva, uma revisão relata que há diferenças genômicas dentre as populações de células-tronco embrionárias e células-tronco pluripotentes induzidas, seja pela sua pré-existência como célula adulta ou pela forma com que foi reprogramada e que podem gerar consequências de aberrações cromossômicas não conhecidas. Embora esse grupo de estudo relate que as consequências sejam desconhecidas, ainda assim pelas vantagens da utilização da célula, são recomendadas as células-tronco pluripotentes induzidas [46]. Jeon *et al.* [56] também mostram a utilização de células-tronco pluripotentes induzidas. Apesar disso, uma das revisões afirma que em meio a uma cuidadosa pesquisa na literatura, é observado que as células produtoras de insulina

derivadas de células-tronco embrionárias estão mais próximas às células β verdadeiras comparadas às células-tronco pluripotentes induzidas [57].

Conclusão

A maioria dos recentes estudos abordam diferentes meios e estratégias para obtenção de células β pancreáticas capazes de serem utilizadas para tratamento o DM1. Inúmeras são as abordagens propostas para melhorar a diferenciação de células-tronco embrionárias em células β maduras ou para obter a diferenciação completa in vitro, todas com abordagens diferentes, porém, com um objetivo em comum de encontrar um meio eficaz para tratar o DM1. Mas, ainda há caminhos para a utilização clínica dessas células, pois, como muitos artigos relataram, as células-tronco embrionárias ainda possuem dificuldades em sua aplicação clínica, mas sua utilidade ainda é aprovada e promissora.

Referências

1. World Health Organization (WHO) [Internet]. The Organization; 2015 [update 2014; cited 2015 Oct 26]. 10 facts about diabetes; [about 1p]. Available from: <http://www.who.int/features/factfiles/diabetes/en/>.
2. World Health Organization (WHO) [Internet]. The Organization; 2015 [update 2015; cited 2015 Oct 26]. Media Center - Diabetes; [about 1p]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>
3. Portal Brasil [Internet]. Portal; 2015 [update 2015; cited 2016 Nov 10]. Diabetes atinge 9 milhões de brasileiros; [about 1p]. Available from: <http://www.brasil.gov.br/saude/2015/07/diabetes-atinge-9-milhoes-de-brasileiros>
4. World Health Organization (WHO) [Internet]. The Organization; 2015 [update 2014; cited 2015 Oct 28]. Diabetes Programmer; [about 1p]. Available from: <http://www.who.int/diabetes/en/>
5. American Diabetes Association (ADA). Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care* 2015;38(Suppl1):S1,S8,S10,S11.
6. Mayhew CN, Wells JM. Converting human pluripotent stem cells into beta-cells: recent advances and future challenges. *Curr Opin Organ Transplant* 2010;15(1):54-60.
7. Balda CA, Pacheco-Silva A. Immunologic aspects of type 1 diabetes mellitus. *Rev Assoc Med Bras* 1999;45(2):175-80.
8. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM). Sociedade [Internet]. 2006 [update 2006; cited 2015 Oct 28]. Diabetes Mellitus Gestacional. Available from: http://www.projetodiretrizes.org.br/5_volume/14-Diabet.pdf
9. World Health Organization (WHO) [Internet]. The Organization; 2015 [update 2013; cited 2015 Nov 05]. Diabetes Gestacional; [about 1p]. Available from: <http://www.diabetes.org.br/ultimas/diabetes-gestacional>
10. Weinert LS, Silveiro SP, Oppermann ML, Salazar CC, Simionato BM, Siebeneichler A et al. Diabetes gestacional: um algoritmo de tratamento multidisciplinar. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2011;55(7):435-45.
11. Efrat S. Generation of insulin-producing cells from stem cells for cell replacement therapy of type 1 diabetes. *Isr Med Assoc J* 2004 May;6(5):265-7.
12. Weems P, Cooper M. Pancreas transplantation in type II diabetes mellitus. *World J Transplant.* 2014;4(4):216-21.
13. Shapiro AM, Ricordi C, Hering BJ, Auchincloss H, Lindblad R, Robertson RP et al. International trial of the Edmonton protocol for islet transplantation. *N Engl J Med* 2006;355(13):1318-30.
14. Shao S, Gao Y, Xie B, Xie F, Lim SK, Li G. Correction of hyperglycemia in type 1 diabetic models by transplantation of encapsulated insulin-producing cells derived from mouse embryo progenitor. *J Endocrinol* 2011;208(3):245-55.
15. Kelly C, Flatt CC, McClenaghan NH. Stem cell-based approaches for the treatment of diabetes. *Stem Cells Int* 2011;2011:424986.
16. Newby BN, Terada N, Mathews CE. In search of a surrogate: engineering human beta cell lines for therapy. *Trends Endocrinol Metab* 2014;25(8):378-80.

17. Agulnick AD, Ambruzs DM, Moorman MA, Bhoumik A, Cesario RM, Payne JK et al. Insulin-producing endocrine cells differentiated in vitro from human embryonic stem cells function in macroencapsulation devices in vivo. *Stem Cells Transl Med* 2015;4(10):1214-22.
18. Schulz TC. Concise Review: Manufacturing of Pancreatic Endoderm Cells for Clinical Trials in Type 1 Diabetes. *Stem Cells Transl Med* 2015;4(8):927-31.
19. Evans-Molina C, Vestermark GL, Mirmira RG. Development of Insulin Producing Cells From Primitive Biologic Precursors. *Curr Opin Organ Transplant* 2009;14(1):56-63.
20. Korytnikov R, Nostro MC. Generation of polyhormonal and multipotent pancreatic progenitor lineages from human pluripotent stem cells. *Methods*. 2015 pii:S1046-2023(15):30135-3.
21. Schulz TC, Young HY, Agulnick AD, Babin MJ, Baetge EE, Bang AG et al. A scalable system for production of functional pancreatic progenitors from human embryonic stem cells. *PLoS One* 2012;7(5):e37004.
22. Calafiore R, Montanucci P, Basta G. Stem cells for pancreatic β -cell replacement in diabetes mellitus: actual perspectives. *Curr Opin Organ Transplant*. 2014;19(2):162-8.
23. Grinfeld S, Gomes RGC. Células-tronco: um breve estudo. *International Journal of Dentistry* 2004;3(1):324-9.
24. Rippon HJ and Bishop AE. Embryonic stem cells. *Cell Prolif*. 2004; 37, 23–34.
25. Biwas and Huchthins. Embryonic Stem Cells. *Stem Cells and development* 2007;16:213–21.
26. Capasso D and E Brown et al. Genetic Science Learning Centre, University of Utah. Disponível em URL: [http://gslc.genetics.utah.edu/units/stem cells/whatissc/](http://gslc.genetics.utah.edu/units/stem%20cells/whatissc/); 2007.
27. Instituto de Pesquisa com células-tronco (IPCT) [Internet]. Instituto; 2013. [update 2013; cited 2015 Nov 09]. Células-tronco; [about 1p]. Available from: <http://celulastroncors.org.br/celulas-tronco-2/>
28. Richardson T, Kumta PN, Banerjee I. Alginate encapsulation of human embryonic stem cells to enhance directed differentiation to pancreatic islet-like cells. *Tissue Eng Part A*. 2014; 20(23-24): 3198-211.
29. Bose B, Shenoy SP, Konda S, Wangikar P. Human embryonic stem cell differentiation into insulin secreting β -cells for diabetes. *Cell Biol Int* 2012;36(11):1013-20.
30. Banerjee I, Sharma N, Yarmush M. Impact of co-culture on pancreatic differentiation of embryonic stem cells. *J Tissue Eng Regen Med* 2011;5(4):313-23.
31. Rezanian A, Bruin JE, Riedel MJ, Mojibian M, Asadi A, Xu J et al. Maturation of human embryonic stem cell-derived pancreatic progenitors into functional islets capable of treating pre-existing diabetes in mice. *Diabetes* 2012;61(8):2016-29.
32. Vija L, Farge D, Gautier JF, Vexiau P, Dumitrache C, Bourgarit A et al. Mesenchymal stem cells: Stem cell therapy perspectives for type 1 diabetes. *Diabetes Metab* 2009;35(2):85-93.
33. Wu H, Mahato R. Mesenchymal stem cell-based therapy for type 1 diabetes. *Discov Med* 2014;17(93):139-43.
34. http://biomed.brown.edu/Courses/BI108/BI108_2002_Groups/pancstems/stemcell/adultvsembryonicsc.htm
35. Schiesser JV, Micallef SJ, Hawes S, Elefanty AG, Stanley EG. Derivation of insulin-producing beta-cells from human pluripotent stem cells. *Rev Diabet Stud* 2014;11(1):6-18.
36. Wen Y, Chen B, Ildstad ST. Stem cell-based strategies for the treatment of type 1 diabetes mellitus. *Expert Opin Biol Ther* 2011;11(1):41-53.
37. Sui J, Mehta M, Shi B, Morahan G, Jiang FX. Directed differentiation of embryonic stem cells allows exploration of novel transcription factor genes for pancreas development. *Stem Cell Rev* 2012;8(3):803-12.
38. Roche E, Vicente-Salar N, Arribas M, Paredes B. Cell differentiation: therapeutical challenges in diabetes. *J Stem Cells* 2012;7(4):211-28.
39. Lee DH, Chung HM. Differentiation into endoderm lineage: pancreatic differentiation from embryonic stem cells. *Int J Stem Cells* 2011;4(1):35-42.
40. Schiesser JV, Wells JM. Generation of β cells from human pluripotent stem cells: are we there yet? *Ann N Y Acad Sci* 2014;1311:124-37.

41. Moore SJ, Gala-Lopez BL, Pepper AR, Pawlick RL, Shapiro AJ. Bioengineered stem cells as an alternative for islet cell transplantation. *World J Transplant* 2015;5(1):1-10.
42. Tuch BE, Hughes TC, Evans MD. Encapsulated pancreatic progenitors derived from human embryonic stem cells as a therapy for insulin-dependent diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2011;27(8):928-32.
43. Raikwar SP, Zavazava N. PDX1-engineered embryonic stem cell-derived insulin producing cells regulate hyperglycemia in diabetic mice. *Transplant Res* 2012;1(1):19.
44. Vogel G. Biomedicine. Stem Cells recipe offers diabetes hope. *Science* 2014; 346(6206):148.
45. Candiello J, Singh SS, Task K, Kumta PN, Banerjee I. Early differentiation patterning of mouse embryonic stem cells in response to variations in alginate substrate stiffness. *J Biol Eng* 2013;7(1):9.
46. Muir KR, Lima MJ, Docherty HM, Docherty K. Cell therapy for type 1 diabetes. *QJM* 2014;107(4):253-9.
47. O'Sullivan ES, Vegas A, Anderson DG, Weir GC. Islets transplanted in immunoisolation devices: a review of the progress and the challenges that remain. *Endocr Rev* 2011;32(6):827-44.
48. Motté E, Szepešy E, Suenens K, Stangé G, Bomans M, Jacobs-Tulleneers-Thevissen D et al. Composition and function of macroencapsulated human embryonic stem cell-derived implants: comparison with clinical human islet cell grafts. *J Physiol Endocrinol Metab* 2014;307(9):E838-46.
49. Cechin S, Alvarez-Cubela S, Giraldo JA, Molano RD, Villate S, Ricordi C et al. Influence of in vitro and in vivo oxygen modulation on β cell differentiation from human embryonic stem cells. *Stem Cells Transl Med* 2014;3(3):277-89.
50. Guo T, Landsman L, Li N, Hebrok M. Factors expressed by murine embryonic pancreatic mesenchyme enhance generation of insulin-producing cells from hESCs. *Diabetes* 2013;62(5):1581-92.
51. Zavazava N. Progress toward establishing embryonic stem or induced pluripotent stem cell-based clinical translation. *Curr Opin Organ Transplant* 2014;19(6):598-602.
52. Chhabra P, Brayman KL. Stem cell therapy to cure type 1 diabetes: from hype to hope. *Stem Cells Transl Med* 2013;2(5):328-36.
53. Bruns H, Schultze D, Schemmer P. Alternatives to islet transplantation: future cell sources of beta-like cells. *Clin Transplant* 2013;27(Suppl25):30-3.
54. Godfrey KJ, Mathew B, Bulman JC, Shah O, Clement S, Gallicano GI. Stem cell-based treatments for Type 1 diabetes mellitus: bone marrow, embryonic, hepatic, pancreatic and induced pluripotent stem cells. *Diabet Med* 2012;29(1):14-23.
55. Voltarelli JC, Couri CE, Rodrigues MC, Moraes DA, Stracieri AB, Pieroni F et al. Stem cell therapies for type 1 diabetes mellitus. *Indian J Exp Biol* 2011;49(6):395-400.
56. Jeon K, Lim H, Kim JH, Thuan NV, Park SH, Lim YM et al. Differentiation and transplantation of functional pancreatic beta cells generated from induced pluripotent stem cells derived from a type 1 diabetes mouse model. *Stem Cells Dev* 2012;21(14):2642-55.
57. Domínguez-Bendala J, Inverardi L, Ricordi C. Stem cell-derived islet cells for transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2011;16(1):76-82.