

# Điều trị bệnh tiểu đường týp 1 bằng cách ghép tế bào gốc trung mô máu cuống rốn người trên mô hình chuột

*Phan Kim Ngọc\*; Dương Thanh Thủy\*  
Phạm Lê Bửu Trúc\*; Phạm Văn Phúc\**

## TÓM TẮT

Trong nghiên cứu này, tế bào gốc trung mô (TBGTM) từ máu cuống rốn người được sử dụng trong cấy ghép điều trị bệnh tiểu đường týp 1 trên mô hình chuột. Ghép tế bào vào chuột tiểu đường bằng 2 cách: vùng tụy và tĩnh mạch. Kết quả: sau 30 ngày ghép: lô ghép tế bào qua tĩnh mạch đuôi, cân nặng tăng 22%, lượng đường huyết tăng 13%. Ngược lại, lô ghép tế bào vào tụy, sự phục hồi kém hơn, cân nặng tăng 14%, lượng đường huyết tăng đến 50%. Ở lô đối chứng, cân nặng giảm từ 24 - 28% và lượng đường huyết tăng từ 62 - 105%. Lô ghép tế bào, có sự hiện diện insulin trong huyết tương. Những kết quả này bước đầu mở ra triển vọng ứng dụng TBGTM máu cuống rốn trong trị bệnh tiểu đường týp 1.

\* Từ khóa: Bệnh tiểu đường týp 1; Ghép tế bào gốc trung mô máu cuống rốn người; Tế bào gốc.

## Curing type 1 diabetes by human umbilical cord blood derived mesenchymal stem cell xenotransplantation on mouse model

### SUMMARY

*In our research, human umbilical cord blood derived mesenchymal stem cells were used to treat type 1 diabetic mouse model. Mesenchymal stem cells were injected into mouse via two ways: into pancreas and into tail vein. The result showed that after 30 days transplantation, in tail vein injection group, the body weight increased 22% and blood glucose increased 13%; while in pancreas injection group, the body weight only increased 14% and blood glucose increased 50%. Comparing to the control group, the body weight decreased from 24 to 28% and blood glucose increased from 62 to 105%. In two group that grafting with mesenchymal stem cells, there was insulin in mice peripheral blood. These initial results would open up new prospects for applications of mesenchymal stem cell to treat type 1 diabetes.*

\* Key words: Type 1 diabetes; Human umbilical cord blood mesenchymal stem cell transplantation; Stem cells.

---

\* Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh

Phản biện khoa học: TS. Nguyễn Văn Đông

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, liệu pháp insulin và cấy ghép tiểu đảo là liệu pháp phổ biến trong điều trị tiểu đường nhưng vẫn còn nhiều hạn chế như thiếu hụt khả năng trao đổi chất của

tiểu đảo trong thời gian dài, thiếu hụt nguồn tiểu đảo hiến tặng và vấn đề thải loại sau ghép.

Liệu pháp TBGTM hi vọng mang lại liệu pháp điều trị mới trong y học do khả năng

biệt hóa thành nhiều loại tế bào chức năng khác nhau, cũng như tiềm năng tăng sinh cao [3]. Một số nghiên cứu cho rằng TBGTM có thể biệt hóa thành tế bào tiết insulin, đồng thời sản xuất hàng loạt các cytokine và nhân tố tăng trưởng có khả năng thúc đẩy sự tồn tại của tế bào xung quanh đảo tụy [7]. Trong liệu pháp cấy ghép tế bào gốc, TBGTM không hoặc có rất ít khả năng gây đáp ứng miễn dịch [1] và chúng có thể di cư đến những vùng bị tổn thương và giúp hồi phục vùng bị tổn thương sau khi ghép vào cơ thể [4]. Vì vậy, TBGTM khi được ghép vào cơ thể bệnh tiểu đường týp 1 có thể hồi phục tế bào  $\beta$ , hỗ trợ biến dưỡng, cải thiện tình trạng bệnh.

Vì vậy, trong nghiên cứu này, chúng tôi thử nghiệm khảo sát khả năng trị bệnh tiểu đường týp 1 khi tiến hành cấy ghép TBGTM khác loài lên mô hình chuột tiểu đường týp 1.

## VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 1. Vật liệu nghiên cứu.

\* *Mô hình chuột tiểu đường:*

Chuột *Mus musculus*. Var Albino 6 - 8 tuần tuổi, cùng giới tính, thể trọng 20 - 25 gram (Viện Pasteur TP.Hồ Chí Minh) được tiêm streptozotocin (STZ, Sigma) qua tĩnh mạch với liều 50 mg/kg/ngày x 5 ngày (theo phương pháp của Frank Brosius, Trung tâm Y khoa, Đại học Michigan, Hoa Kỳ). Những con chuột được xử lý bằng STZ có lượng đường huyết > 200 mg/dl trong 20 ngày, đủ tiêu chuẩn bệnh tiểu đường týp 1.

\* *Mẫu máu cuống rốn:*

Thu nhận máu cuống rốn từ các sản phụ vừa mới sinh, âm tính với HBV, HIV, HCV... và một số bệnh lý khác ở Bệnh viện Hùng Vương, TP.Hồ Chí Minh. Tất cả mẫu được thu nhận có sự đồng ý của sản phụ.

### 2. Phương pháp nghiên cứu.

\* *Phân lập và nuôi cấy TBGTM:*

Mẫu máu sử dụng để thu nhận quần thể tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm đẳng tỷ trọng, sử dụng ficoll-paque (Sigma, Mỹ), với tốc độ 3.000 vòng/phút/5 phút. Sau đó, nuôi cấy chọn lọc trong môi trường thích hợp TBGTM từ quần thể tế bào đơn nhân này. Khi mật độ tế bào đạt 70 - 80% diện tích bề mặt dụng cụ nuôi, cấy chuyển tế bào bằng trypsin/EDTA 0,25% (Sigma, Mỹ). Tế bào sau 5 lần cấy chuyển được sử dụng để nghiên cứu.

\* *Ghép tế bào TBGTM:*

Nghiên cứu tiến hành trên 5 nghiệm thức tương ứng với 5 lô chuột. Lô 1: chuột bình thường (BT). Lô 2: chuột tiểu đường đối chứng (ĐC) được tiêm PBS vào tĩnh mạch đuôi (ĐC-TM). Lô 3: chuột tiểu đường đối chứng được tiêm PBS vào vùng tụy (ĐC-TUY). Lô 4: chuột tiểu đường được ghép  $5 \times 10^6$  tế bào/con vào tĩnh mạch đuôi (TBGTM-TM). Lô 5: chuột tiểu đường được ghép lô ghép TBGTM  $5 \times 10^6$  tế bào/con vào vùng cận tụy (TBGTM-TUY).

\* *Xác định hiệu quả ghép TBGTM:*

Các tiêu chí lượng đường huyết (nhịn đói 6 tiếng), cân nặng được khảo sát liên tục mỗi ngày một lần trong suốt 30 ngày sau khi ghép. Ngày thứ 30, gây mê chuột bằng ketamine (Solupharm GmbH, Đức), thu máu tim và dùng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) để xác định sự hiện diện insulin trong huyết thanh. Thu nhận tế bào tụy bằng phương pháp cơ học (dùng màng lọc tế bào 100  $\mu$ m) và tiến hành nhuộm dithizone (DTZ) để xác định sự hồi phục của đảo tụy.

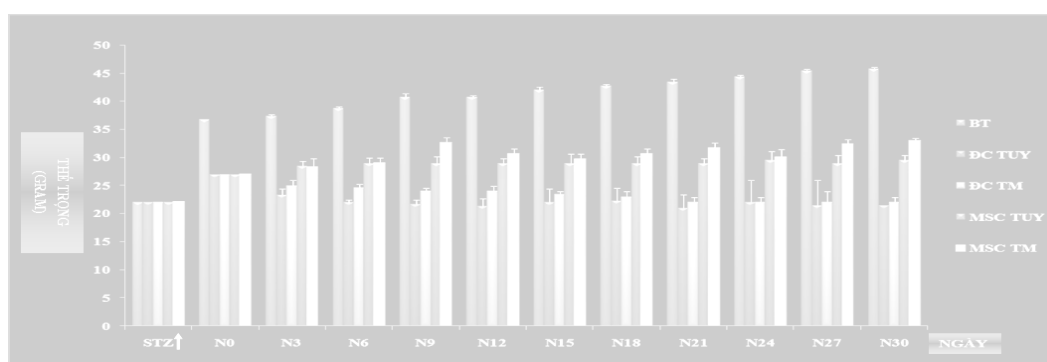
## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

## 1. Sức sống chuột sau ghép.

Một tuần đến 30 ngày sau khi ghép TBGTM, lô TBGTM-TM và lô TBGTM-TUY bắt đầu có dấu hiệu hồi phục sức sống như mức độ linh hoạt, lông mượt, ít rụng lông, tăng cân, tiểu ít, không có biểu hiện stress, không có hành vi quay tròn. Trong đó, ở lô TBGTM-TUY, 1 con chết ở ngày 3 (N3). Trong khi đó, chuột tiểu đường không được ghép tế bào có sức sống giảm, kém linh hoạt, ốm yếu, lông xơ, rụng lông nhiều, tiểu nhiều, stress và 2 con chết ở các ngày 12 (N12) và ngày 24 (N24).

## 2. Cân nặng chuột sau ghép.

Cả hai lô được ghép tế bào đều có cân nặng cao hơn so với lô đối chứng tương ứng; thấp hơn so với lô bình thường. Thể trọng tăng lên sau các ngày cấy ghép và luôn giữ ở mức cao hơn thời điểm ghép tế bào N0.



Hình 1: Biểu đồ so sánh cân nặng giữa các lô thí nghiệm.

Đối với lô TBGTM-TM, từ N0 đến N6, thể trọng tăng cao hơn so với trước khi ghép, sau đó thể trọng được giữ ở mức khá ổn định. Tại một vài thời điểm N9 ( $32,66 \pm 1,20g$ ), N21 ( $31,58 \pm 0,89g$ ), N27 ( $32,25 \pm 1,45g$ ), N30 ( $32,92 \pm 1g$ ) thể trọng tăng khá cao và cao hơn so với lô ĐC-TUY. Thể trọng của chuột sau 30 ngày ghép (N30) tăng cao so với N0 và gần với mức tăng của lô bình thường (lô TBGTM-TM tăng 22% so với 27% ở lô bình thường). Hơn nữa, so với lô TBGTM-TUY, ở lô TBGTM-TM, thể trọng của chuột tăng nhiều hơn, đặc biệt trong giai đoạn N9 đến N30. Trong khi đó, ở lô ĐC-TM, thể trọng chuột giảm theo thời gian, đến N30 giảm tới 24%.

Đối với lô TBGTM-TUY, N0 đến N6, thể trọng chuột tăng so với trước khi ghép và sau đó giữ ở mức ổn định. Ngày N30, thể trọng của chuột tăng 14%. Trong khi đó, ở lô

ĐC-TUY, thể trọng giảm theo thời gian, đến N30 giảm tới 28%.

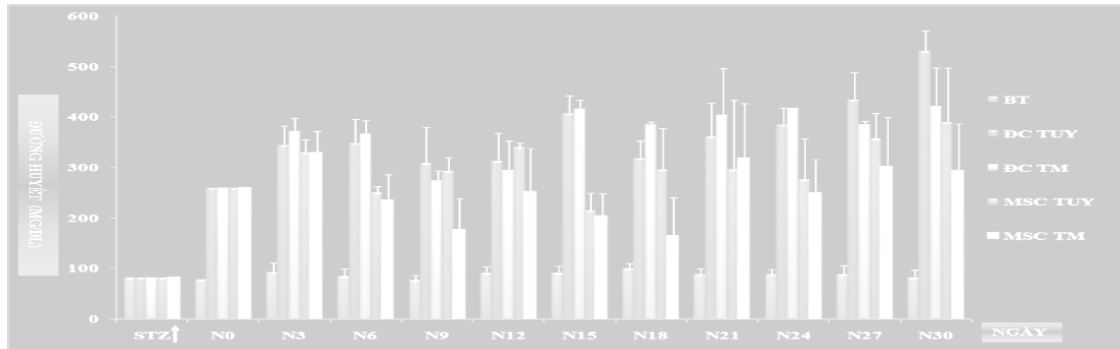
Ở cả hai lô được ghép tế bào không đạt thể trọng như lô chuột bình thường, nhưng thể trọng đều tăng hơn so với trước khi ghép và luôn cao hơn so với lô đối chứng. Điều này chứng tỏ việc ghép tế bào đã góp phần hồi phục cân nặng cho chuột tiểu đường. Hơn thế, ghép tế bào qua đường tĩnh mạch giúp hồi phục thể trọng tốt hơn so với ghép tế bào vào vùng tụy.

## 3. Đường huyết chuột sau ghép.

Cả hai lô được ghép tế bào đều có lượng đường huyết cao hơn so với lô chuột bình thường. Tuy nhiên, lượng đường huyết nhìn chung luôn thấp hơn so với lô đối chứng. Cả hai lô đều có hiện tượng đường huyết tăng cao vào ngày N3, sau đó giảm và giữ ở mức tương đương với thời điểm

trước ghép. Điều này có thể được lý giải: để thích nghi, tế bào TBGTM môi trường *in vivo* cần có thời gian và phát huy vai trò thúc đẩy hồi phục các đảo tụy bị tổn thương do thuốc gây ra. Do vậy, ở giai

đoạn đầu (3 ngày sau ghép) chuột được ghép tăng lượng đường huyết do vẫn chịu tác động của thuốc STZ như ở lô đối chứng.



Hình 2: Biểu đồ so sánh đường huyết giữa các lô thí nghiệm.

Đối với lô TBGTM-TM, phần lớn các thời điểm khảo sát trong 30 ngày đều có lượng đường huyết thấp hơn thời điểm ghép tế bào N0 ( $259,00 \pm 0,00$  mg/dl), lượng đường huyết giảm thấp nhất đạt 37% (N18). Tuy nhiên, cũng có một vài thời điểm (N3, N21, N27 và N30) lượng đường huyết tăng cao hơn so với N0, nhưng mức tăng cao nhất cũng chỉ đạt 27%. Đặc biệt, trong giai đoạn N6 đến N18, lượng đường huyết giảm rõ rệt, thấp hơn lô đối chứng và có thời điểm đạt tương đương với lô bình thường (N9 là  $176,00 \pm 72,64$  mg/dl, N18 là  $164,33 \pm 75,57$  mg/dl so với lô bình thường là  $75,53 \pm 10,84$  mg/dl và  $98,87 \pm 11,24$  mg/dl;  $p > 0,05$ ). Sau 30 ngày ghép, lượng đường huyết vẫn giữ ở mức gần tương đương với trước ghép (N30:  $293,33 \pm 93,82$  mg/dl so với N0 là  $259,00 \pm 0,00$  mg/dl;  $p > 0,05$ ). Trong khi đó, lô ĐC-TM, lượng đường huyết luôn tăng cao hơn so với thời điểm N0 và lượng đường huyết của lô ĐC-TM ở N30 lên đến  $420,00 \pm 78,00$  mg/dl, cao hơn N0 tới 62%.

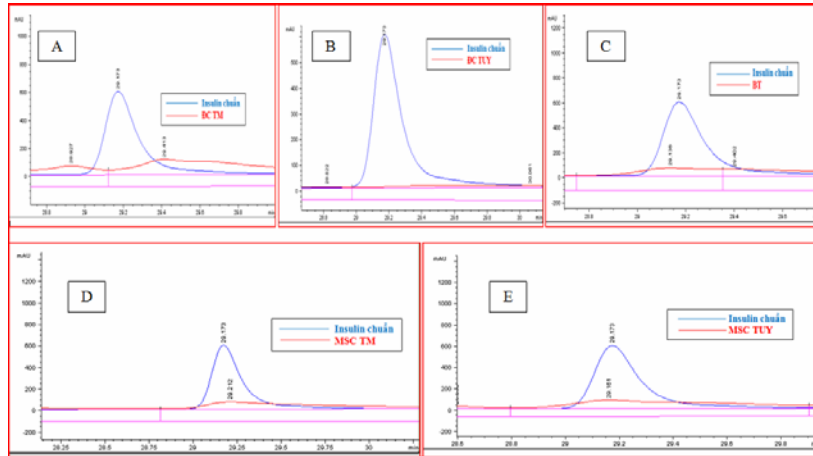
Đối với lô TBGTM-TUY, phần lớn các thời điểm khảo sát có lượng đường huyết sau ghép cao hơn so với thời điểm ghép tế bào N0, nhưng mức tăng cao nhất chỉ đạt

50% ở một vài thời điểm (N6:  $249,00 \pm 49,00$  mg/dl, N15:  $214,00 \pm 35,00$  mg/dl) lượng đường huyết giảm, mức giảm thấp nhất đạt 17%. Đồng thời, lượng đường huyết luôn giữ ở mức thấp hơn so với lô đối chứng (trừ ngày N12 là  $340,00 \pm 9,00$  mg/dl tương đương với lô đối chứng  $312,67 \pm 55,52$  mg/dl;  $p > 0,05$ ). 30 ngày sau ghép, đường huyết lô TBGTM-TUY tăng cao, nhưng chỉ đạt 50%, trong khi lô ĐC-TUY tăng tới 105%.

Mặc dù, việc ghép TBGTM không cải thiện được lượng đường huyết đến mức như chuột bình thường ( $< 126$  mg/dl), nhưng chúng vẫn giúp cho chuột ổn định đường huyết tương đương với mức gần với thời điểm N0. Khả năng ổn định đường huyết của phương pháp ghép tĩnh mạch cao hơn phương pháp ghép tiếp cận tụy.

#### 4. Insulin trong huyết thanh chuột sau khi ghép.

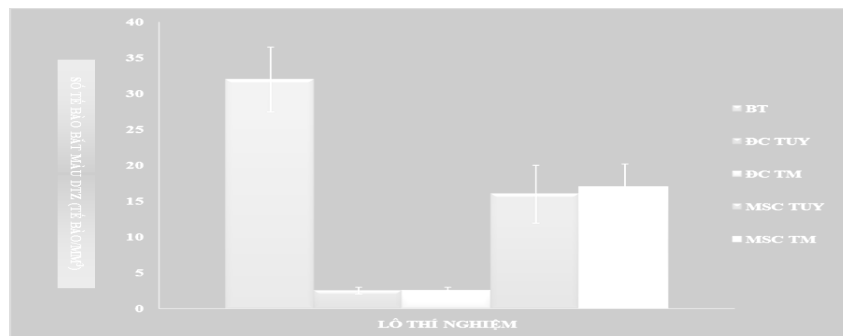
Đánh giá hiện diện insulin trong huyết thanh chuột dựa trên so sánh tương quan với mẫu insulin chuẩn qua thời gian hiện diện của các peak protein trong mẫu.



Hình 3: Kết quả HPLC insulin huyết thanh cho lô ĐC-TM (A), ĐC-TUY (B), BT (C), TBGTM-TM (D) và TBGTM-TUY (E).

Cả hai lô đối chứng đều không thấy sự hiện diện insulin trong huyết thanh (hình 3.A, 3.B). Cả hai phương pháp ghép đều cho kết quả tương đương nhau, có hiện diện insulin trong mẫu huyết thanh, tương tự như đối với lô chuột bình thường (hình 3.C, 3.D, 3.E). Chứng tỏ việc ghép TBGTM bằng cả 2 phương pháp trên đều giúp cho chuột tiểu đường có khả năng tạo insulin đưa vào dòng máu, từ đó giúp chuột ổn định được lượng đường huyết và cân nặng hơn so với những con chuột không được điều trị.

#### 5. Hồi phục tụy thông qua phương pháp xác định tế bào bắt màu DTZ.



Hình 4: Số lượng tế bào bắt màu DTZ của các lô thí nghiệm.

Cả hai lô ghép TBGTM đều có số lượng tế bào bắt màu với thuốc nhuộm DTZ, tăng đáng kể so với lô không được ghép tế bào;  $17 \pm 3$  tế bào/mm<sup>3</sup> ở lô TBGTM-TM so với  $3 \pm 1$  tế bào/mm<sup>3</sup> ở lô ĐC-TM,  $16 \pm 4$  tế bào/mm<sup>3</sup> ở lô TBGTM-TUY so với  $3 \pm 1$  tế bào/mm<sup>3</sup> ở lô ĐC-TUY; với  $p < 0,05$ . Ở hai lô ghép TBGTM, số lượng tế bào bắt màu DTZ không nhiều như lô bình thường ( $32 \pm 5$  tế bào/mm<sup>3</sup>).

Liệu pháp ghép TBGTM cũng có khả năng hồi phục các đảo tụy rõ rệt, tăng tới 6,8 lần (lô TBGTM-TM) và 6,4 lần (lô TBGTM-TUY) so với lô không được ghép tế bào tương ứng.

## BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, ghép TBGTM có hiệu quả hồi phục cân nặng cho chuột tiểu đường tít 1, tăng thể trọng 22% (lô TBGTM-TM) và 14% (lô TBGTM-TUY). Đồng thời, liệu pháp này cũng có hiệu quả hồi phục lượng đường huyết, giúp đường huyết của chuột tiểu đường giữ ở mức ổn định, không bị tăng cao. Sau 30 ngày chỉ tăng 13% (lô TBGTM-TM) và 50% (lô TBGTM-TUY) so với N0, thậm chí có thời điểm lượng đường huyết xuống đến gần tương đương với chuột bình thường (N9, N18 ở lô TBGTM-TM). Việc ghép TBGTM rõ ràng giúp tạo ra insulin mới và hồi phục tế bào  $\beta$  bị tổn thương do STZ (số tế bào bắt màu DTZ của lô TBGTM-TM tăng 6,8 lần và lô TBGTM-TUY tăng 6,4 lần so với đối chứng tương ứng). Liệu pháp ghép TBGTM bằng phương pháp ghép tĩnh mạch có hiệu quả điều trị bệnh tiểu đường cao hơn phương pháp ghép vào vùng tụy.

TBGTM có khả năng “homing”, chúng di cư đến các vùng bị tổn thương của cơ thể và hỗ trợ khả năng hồi phục các tế bào bị hủy hoại ở đó. Yu-Xin-Yu và CS cho rằng, ghép TBGTM có tác động hồi phục tổn thương tụy do STZ hay sự tấn công của tế bào T gây do cơ chế cận tiết. TBGTM tiết ra hàng loạt cytokine, nhân tố tăng trưởng, nhân tố kích thích lên tế bào xung quanh. Hoạt động cận tiết này tác động tích cực lên tế bào  $\beta$  bị hư hại bằng cách bảo vệ chúng khỏi bị apoptosis và thúc đẩy tế bào tiền thân tụy nội tại tăng sinh. Điều này do cơ chế cận tiết đã có các tác dụng như tạo mạch, bảo vệ tế bào, kháng viêm, thúc đẩy nguyên phân và kháng apoptosis [10]. Hơn nữa, TBGTM có thể đã chuyển biệt hóa *in vivo* thành IPC do kích thích của vi môi trường xung quanh [2]. Ngoài ra, chúng cũng có khả năng dung hợp với tế bào trong tụy, thúc đẩy sự tạo mới insulin [9].

Trong nghiên cứu này, phương pháp ghép tĩnh mạch hiệu quả hơn ghép vào vùng tụy. Tình trạng đường huyết cao kéo dài dẫn đến nhiều biến chứng nghiêm trọng làm cho tổn thương vật lý trên cơ thể chuột tiểu đường tít 1 khó lành hơn chuột bình thường. Việc ghép TBGTM vào vùng tụy gây ảnh hưởng không chỉ trực tiếp vào tụy (nơi vốn đã bị hủy hoại bởi STZ) mà còn các cơ quan khác như gan, lách, dạ dày, ruột (những cơ quan có liên quan đến hoạt động biến dưỡng và miễn dịch), nên tác động mạnh đến biến dưỡng glucose và gây khó khăn cho việc hồi phục. Đồng thời, các phản ứng miễn dịch do nhiễm trùng trong và sau khi ghép, sự hiện diện của tế bào lạ tại vùng tụy có thể tạo ra những tác nhân gây ảnh hưởng bất lợi cho hoạt động của TBGTM và tụy hồi phục của tế bào tụy nội tại. Trong khi

những thương tổn ở tĩnh mạch đuôi dễ hồi phục hơn, ít tác động trực tiếp đến tụy hơn. Hơn nữa, STZ không chỉ gây hại cho tế bào  $\beta$  mà còn tác động đến các tế bào khác trong cơ thể (đặc biệt các tế bào có kênh GLUT2). TBGTM đi vào chuột qua đường tĩnh mạch có thể di chuyển đến toàn bộ các cơ quan thông qua đường máu nên có khả năng “homing” đến bất kỳ nơi nào có tổn thương. Chúng có tác động cộng hưởng, hỗ trợ hồi phục ở nhiều nơi (kể cả tế bào gan, não có khả năng sản xuất insulin mà bị hư hại do STZ), vì thế tăng hiệu quả biến dưỡng hơn so với TBGTM khu trú tại vùng tụy.

Tuy vậy, so với ghép TBGTM của nhiều nhóm nghiên cứu khác, kết quả điều trị bệnh tiểu đường tít 1 bằng phương pháp ghép TBGTM không dùng tác nhân ức chế miễn dịch của chúng tôi còn thấp (đường huyết không hạ được đến mức tương đương với chuột bình thường trong thời gian dài, phần lớn vẫn giữ ở mức 150 mg/dl đến 300 mg/dl) M.Filiuzzi và CS chứng minh ghép  $1 \times 10^6$  TBGTM (thu từ tủy xương) phối hợp với 2.000 tiểu đảo vào vỏ thận chuột Lewis (cảm ứng tiểu đường bằng 65 mg/kg STZ) có hiệu quả giảm đường huyết rất mạnh (chỉ 3 ngày sau ghép đường huyết đã giảm rõ rệt, từ sau 15 ngày giảm xuống < 200 mg/dl và giữ ổn định đến 39 ngày). TBGTM đã tiết ra các nhân tố tăng trưởng nội mạch (VEGF), hỗ trợ tạo mạch máu mới (tăng số lượng mao mạch lên tới  $1.459 \pm 66$  mao mạch/mm<sup>3</sup> so với  $1.002 \pm 55$  mao mạch/mm<sup>3</sup> của chuột chỉ được ghép tiểu đảo), từ đó giúp tiểu đảo mới ghép vào phát huy tác động tốt hơn [5]. P. Lin và CS đưa ra những bằng chứng về chuyển biệt hóa *in vivo* của TBGTM thành IPC khi ghép  $1 \times 10^7$  TBGTM (thu từ tủy xương chuột) vào tĩnh mạch đuôi của chuột Wistar (đã cảm ứng tiểu đường bằng 60 mg/kg STZ). Nhóm này cũng chứng minh hiệu quả điều trị của TBGTM rất cao, chỉ 14 ngày sau ghép, đường huyết đã giảm xuống < 200 mg/dl và đến ngày 28 giảm bằng chuột bình thường (< 126 mg/dl); đồng thời tăng số lượng IPC và hàm lượng insulin trong máu [6]. Veronika S, Ur'Ban và CS tiến hành ghép phối hợp  $10^5$  TBGTM và  $10^6$  tế bào tủy xương vào tĩnh mạch của chuột C57B1/6 tiểu đường tít 1 (cảm ứng bằng 50 mg/kg STZ) có gây suy giảm miễn dịch bằng chiếu xạ liều 900 Gy. Đường huyết và nồng độ insulin huyết thanh ở chuột được ghép phối hợp 2 loại tế bào nhanh chóng trở lại mức bình thường. Điều này được giải thích: có thể TBGTM đã cảm ứng hồi phục của chính tế bào tiết insulin nội tại, đồng thời ức chế đáp ứng miễn dịch chống lại tế bào  $\beta$  mới hình thành thông qua trung gian tế bào T [8]. Vì vậy, hiệu quả hồi phục bệnh của ghép TBGTM trong nghiên cứu của chúng tôi còn thấp, có thể do hàm lượng TBGTM ghép chỉ là  $5 \times 10^6$  tế bào, chưa đủ để hồi phục bệnh hoàn toàn, có thể có phản ứng thải loại do ghép khác loài khi không gây ức chế miễn dịch. Đường huyết chỉ giảm rõ rệt trong thời gian đầu, sau đó lại có dấu hiệu tăng lên cho thấy khả năng về sau TBGTM có thể đi vào chu trình apoptosis của chính mình, hoặc bị thải loại dần nên giảm hiệu quả hồi phục.

## KẾT LUẬN

Mặc dù trong nghiên cứu này, khả năng hồi phục bệnh tiểu đường týp 1 của ghép TBGTM chưa cao, nhưng liệu pháp này vẫn sẽ trở thành liệu pháp hứa hẹn để điều trị bệnh tiểu đường týp 1 trong tương lai.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. *Aggarwal S, Pittenger MF.* Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood.* 2005, 105 (4). pp.1815-1822.
2. *Chang C, Niu D, Zhou H.* Mesenchymal stem cells contribute to insulin-producing cells upon microenvironmental manipulation in vitro. *Transplant Proc.* 2007; 39. pp3363-3368.
3. *Herzog EL, Chai L, Krause DS.* Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood.* 2003, 102, pp.3483-3493.
4. *L. Vija, D. Fargec, J.-F. Gautier, P. Vexiau, C. Dumitrache, A. Bourgarit, F. Verrecchia, J. Larghero.* Mesenchymal stem cells: Stem cell therapy perspectives for type 1 diabetes. *Diabetes Metab.* 2009, 10, p.1016.
5. *M. Figliuzzi, R. Cornolti, N. Perico, C. Rota, M. Morigi, G. Remuzzi, A. Remuzzi, and A. Benigni.* Bone Marrow-derived mesenchymal stem cells improve islet graft function in diabetic rats. *Transplantation Proceedings.* 2009, 41, pp./1797-1800.
6. *P. Lin, L. Chen, N. Yang, Y. Sun, and Y.X. Xu.* Evaluation of stem cell differentiation in diabetic rats Transplanted with bone marrow mesenchymal stem cells. *Transplantation Proceedings.* 2009, 41, pp1891-1893.
7. *Tomas Koblas, S. Mitchell Harman and Frantisek Saudek.* The application of umbilical cord Blood cells in the treatment of diabetes mellitus. *Rev Diabetic Stud.* 2005, 2, pp.228-234.
8. *Veronika S. Ur'Ban, Judit Kiss, J'Anos Kov'Acs, Elen G'Ocza, Vir'Ag Vas, Eva Monostori, Ferenc Uher.* Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes. *Stem cell.* 2008, 26, pp.244-253.
9. *Ying QL, Nichols J, Evans EP.* Changing potency by spontaneous fusion. *Nature.* 2002, 416, pp.545-548.
10. *Yu-Xin Xu, Li Chen, Rong Wang, Wei-Kai Hou, Peng Lin, Lei Sun, Yu Sun, Qing-Yu Dong.* Mesenchymal stem cell therapy for diabetes through paracrine mechanisms. *Medical Hypotheses.* 2008, 71, pp.390-393.