

## ARTICULO DE INVESTIGACIÓN

### Trasplante de células madre mesenquimales derivadas de la placenta humana en la diabetes tipo 2: un estudio piloto

Ranhua JIANG<sup>1,\*</sup>, MD, Zhibo HAN<sup>2,\*</sup>, MD, Guangsheng ZHUO<sup>3,\*</sup>, MD, Xiaodan QU<sup>1</sup>, MD, Xue LI<sup>1</sup>, MD, Xin WANG<sup>3</sup>, PhD, Yuankang SHAO<sup>3</sup>, Shimin YANG<sup>1</sup>, MD, Zhong Chao HAN

<sup>1</sup> Hospital diabético de Liaoyang 111000, China

<sup>2</sup> Centro Nacional de Ingeniería e Investigación de Células Madre, Instituto de Hematología y hospital de enfermedades de la Sangre, Academia China de Ciencias Médicas y Colegio Médico de Pekin, Tianjin 300020, China

<sup>3</sup> Beijing-Biotech. Co., Ltd., Beijing 100176, China

© Higher Education Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2011

**Resumen:** Las células madre mesenquimales (MSC) han sido utilizadas en los ensayos clínicos para diabetes severa, una enfermedad crónica con una alta morbilidad y mortalidad. La médula ósea es la fuente tradicional de MSC humano, pero la placenta humana parece ser una alternativa fácil y una fuente más disponible. En este caso, el efecto terapéutico del derivado de la placenta MSC (PD-MSC) se estudió en pacientes con diabetes tipo 2 con una mayor duración, disfunción de los islotes de células, altas dosis de insulina, así como un mal control glucémico con el objeto de evaluar la seguridad, la eficacia y la viabilidad del tratamiento PDMSC en la diabetes tipo 2 (DT2). Diez pacientes con Diabetes tipo 2 recibieron tres infusiones intravenosas de PDSC, con intervalo de un mes de la infusión. El número total de PDSC para cada paciente fue  $(1.22-1.51) \times 10^6/\text{kg}$ , con un promedio de  $1,35 \times 10^6/\text{kg}$  /kg. Todos los pacientes tuvieron seguimiento después de terapia durante al menos 3 meses. Una dosis media diaria de insulina utilizada en 10 pacientes se redujo de  $63,7 \pm 18,7$  a  $34,7 \pm 13,4$  UI ( $p < 0,01$ ), y el nivel de péptido C se aumentó de  $4,1 \pm 3,7$  ng / ml a  $5,6 \pm 3,8$  ng / mL ( $P < 0,05$ ), respectivamente, después de la terapia. En 4 de los 10 tratados sus dosis de insulina se redujo en más del 50% después de la infusión. Los niveles medios de insulina y péptido C en cada momento en un total de 10 pacientes fue mayor después del tratamiento ( $P < 0,05$ ). No hubo fiebre, escalofríos, daño al hígado y ni otros efectos colaterales se registraron. La función renal y cardíaca mejoraron después de la infusión. Los resultados obtenidos de este ensayo clínico piloto indican que el trasplante de PD-MSC representa una metodología terapéutica simple, segura y efectiva para pacientes con diabetes tipo 2 con disfunción en los islotes de las células. En el futuro se requerirán estudios clínicos de gran escala de manera aleatoria y bien controlados para fundamentar estas observaciones.

**Palabras clave:** placenta células madre, el tratamiento de diabetes tipo 2

## 1 Introducción

La diabetes ha sido un problema importante de salud pública en el mundo, especialmente en China. Más de 92 millones de chinos hombres y mujeres tienen diabetes y 148 millones tienen prediabetes, en lo cual la diabetes tipo 2 (DT2) es responsable de más del 90% [1]. La diabetes puede dar lugar a complicaciones múltiples en varios sistemas a nivel crónica, especialmente complicaciones micro y macro vasculares, con una alta morbilidad y mortalidad [2-4]. El trasplante de islotes es una terapia eficaz para la diabetes tipo 2, especialmente para aquellos que tenían una larga duración, disfunción grave de islotes de células, o un mal control de la glucosa en sangre, incluso con una gran dosis de insulina. Sin embargo, la aplicación de este tratamiento es muy restringida por la limitada disponibilidad de los islotes humanos primarios, el alto costo y el rechazo inmune como respuesta [5,6].

Las células madre mesenquimales (MSC) representan una relativamente rara población de células que se encuentra principalmente en la médula ósea, pero puede ser aislada de otros tejidos adultos y fetales, incluyendo el tejido adiposo, sangre del cordón umbilical y tejidos, placenta y pulmones del feto [7-13]. Estas células pueden auto-renovarse y diferenciarse en células multilíneas y pueden secretar diversas citocinas, factores de crecimiento, y moléculas de la matriz extracelular que juegan un papel importante en la regulación de la hematopoyesis, angiogénesis y respuestas inmunes e inflamatorias [11,14-18]. Las propiedades de las MSC las hace únicas y se han estado utilizando cada vez más en los ensayos clínicos para una amplia gama de enfermedades regenerativas como la diabetes [19-26]. MSC han demostrado que tienen el potencial para diferenciarse de las células de los islotes pancreáticos y los estudios en animales han demostrado que tienen efectos clínicos en la prevención y el tratamiento de la diabetes [27-31], lo cual presenta una nueva esperanza para el tratamiento de la diabetes. Recientemente, MSC de origen autólogo de la médula ósea se ha utilizado

para tratar la diabetes tipo 2 [26] y de origen adiposo MSC modificado con genes Pdx1 se han aplicado en el tratamiento de la diabetes tipo 1 [27], y ambos habían logrado fomentar la eficacia.

En la realización de la terapia basada en la estrategia de toma de nuevas células, es fundamental identificar el tipo o la fuente de las células madre preferible para una aplicación terapéutica particular, ya sea en términos de las consideraciones éticas o la relación riesgo-beneficio. A pesar de que la médula ósea sigue siendo la principal fuente de MSC para la investigación clínica, la placenta humana ha sido considerada como una de las fuentes ideales debido a su accesibilidad sin conflictos éticos, sin dolor en los procedimientos de los donantes, y un menor riesgo de contaminación viral [32-39]. En el presente estudio, se realizó una fase piloto I, un ensayo clínico con PD-MSC para el tratamiento de un total de 10 pacientes con diabetes tipo 2 con el objetivo de evaluar la seguridad y la viabilidad clínica del PD-MSC.

## 2 Materiales y Métodos

### 2.1 Diseño del estudio

El estudio clínico piloto fue aprobado por el Comité de Ética del hospital para diabéticos de Liaoyang, Liaoning Provincia, China. Todos los pacientes firmaron consentimiento informado antes del tratamiento.

### 2.2 Los pacientes

Un total de 10 pacientes (7 hombres) que cumplían los criterios que fueron incluidos. Los criterios de inclusión fueron pacientes con Diabetes tipo 2 diagnosticada a partir de noviembre 2008 a noviembre 2009 en el Hospital de Diabetes de Liaoyang entre el 30 y 85 años de edad, duración de la diabetes  $\geq 3$  años, que requieren insulina para un control glucémico óptimo en una dosis de  $\geq 0,7$  U / kg / día en por lo menos durante 1 año, con disfunción de insulina, pobre control de la fluctuación de glucosa en la sangre basada en el tratamiento con la insulina y con disposición para participar en el estudio.

En este estudio, los 10 pacientes tenían entre 45 y 82 años de edad, con un promedio de 66 años de edad, la duración de la diabetes desde los 3 años a 20 años, con un promedio de 11 años; con un requerimiento diario de insulina de 38 unidades a 90 unidades, con un promedio de 63,7 unidades. Y todos ellos presentaban complicaciones con insuficiencia coronaria, múltiples infartos lacunares, enfermedad renal, aterosclerosis y la neuropatía de miembros grandes.

### 2.3 Examen

Los siguientes exámenes se llevaron a cabo 3 meses antes

y 3 meses después del trasplante de células. incluyen prueba simultánea de tolerancia a la glucosa, prueba de liberación de insulina, prueba de estimulación C-peptido, determinación de hemoglobina glicosilada, anticuerpos en células islote, anticuerpos anti-insulina, anticuerpos decarboxilasa de ácido glutámico. se llevaron a cabo pruebas cardíacas y pruebas de función renal. Los eventos adversos y efectos secundarios se observaron durante el tratamiento. se consideró eficaz si los requerimientos de insulina diarios se

redujeron

a  $\geq 50\%$  después del tratamiento y que durara más de 3 meses de acuerdo con los criterios de evaluación formuladas en la Cuarta Conferencia Nacional sobre el desarrollo de los trasplantes de islotes, 1995.

2.4 Células madre derivadas de placenta humana (PD-MSC) Las Placentas se obtuvieron de madres sanas, es decir, los contribuyentes no tenían antecedentes genéticos de familia, no antecedentes de cáncer, no hay virus de hepatitis B (VHB), hepatitis C (VHC), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), Epstein-Barr (EBV), citomegalovirus (CMV) y sífilis. La recolección de Placenta fue aprobada por el Comité de Ética Institucional de Investigación Médica de los hospitales de maternidad. Un consentimiento plenamente informado fue obtenido varias semanas antes de la entrega por parte de cada madre. Una muestra de sangre se puso a prueba para determinados patógenos humanos Incluyendo VIH-1 / 2, VHB, sífilis y HCVand. Las placentas fueron inmersas en D-MEM/F-12 (1:1) (Gibco) suplementado con gentamicina (100 mg / mL) y anfotericina B (5 $\mu$ g /ml) (Sigma) y se transfirió inmediatamente al laboratorio.

El tratamiento de tejido de la placenta y el aislamiento de PDMSC se realizó en el laboratorio GMP Salud-biotecnología Co. Ltd de Beijing mediante un método previamente [11,32], con algunas modificaciones. En pocas palabras, la placenta entera se lavó con fosfato salino (PBS) dos veces y luego disecado con tijeras en trozos de aproximadamente 1.2 g de peso. Estas piezas de tejido fueron entonces tratadas con 0,075% de colagenasa (Sigma) a 37 ° C por 30 min, y luego digerida con 0,125% de tripsina (Gibco) a 37 ° C durante 30 min con agitación suave. Suero fetal bovino (FBS) (Hyclone) se añadió para neutralizar el exceso de tripsina. Toda la mezcla se pasó por un filtro de 100 micras para obtener suspensiones celulares. Las células fueron sembradas con una densidad de 10 000 a 15 000 células/cm<sup>2</sup> en un frasco de cultivo celular T75 (Corning) con D-MEM/F-12 suplementado con FBS al 10% y con un factor de crecimiento de la epidermis de 10ng/mL (Sigma). Los cultivos celulares se mantuvieron en una atmósfera húmeda con 5% de CO<sub>2</sub> a 37 ° C. Después de 3 días del cultivo, el medio fue reemplazado para eliminar las células no adherentes, y se cambió dos veces por semana a partir de entonces. Una vez se habo alcanzado la confluencia, las células adherentes (paso 0) fueron separadas con tripsina al 0,125% y se pasaron al frasco T- 75. El adherente MSC obtenido del paso 2 se cosechó en bancos de células seguidos por una serie de evaluaciones de seguridad. El PD-MSC liberado del banco de células se cultivó y se amplió en un Laboratorio de buenas practicas de Manufactura (GMP)

Con un total de 5 pases para preparar los productos celulares finales que deben ser estériles y calificados para todos los exámenes como micoplasma, VHB, VHC, VIH,EBV, CMV, sífilis y endotoxinas. Para el ensayo de esterilidad y micoplasma, un cultivo de esterilidad de 14 días y 28 días de cultivo de micoplasma se realizaron de acuerdo a la farmacopea china. Para probar la esterilidad, una tinción adicional de Gram se realizó para detectar cualquier contaminación bruta antes de la liberación del producto final. Los niveles de endotoxina

fueron detectados por la prueba de lisado de amebocitos *Limulus gel-clot* de acuerdo con la Farmacopea china.

Una alícuota de PD-MSC fue manchada con ficoeritrina (PE) y conjugado con

anticuerpos contra Nestin, CD73, CD90, CD105, CD151, Oct4, Sox2 y HLA-DR, o con fluoresceína isotiocianato (FITC) y conjugado con anticuerpos contra CD 31, CD34 y CD45. Los anticuerpos isotípicos de ratón sirvieron de control. Los anticuerpos utilizados fueron adquiridos en Becton Dickinson, con excepción de CD105 (Serotech).

Las células fueron teñidas con una sola mancha y luego analizadas por el flujo de citometría con un FACSscan (Becton Dickinson). Los productos del paso 5 de la EP-MSC fueron preparados a partir de dos placentas que se utilizaron en este estudio clínico piloto. Estas células mostraron en gran cantidad Nestin, CD151, CD105, CD73, CD166, Oct4 y Sox2 pero no CD34, CD31, CD45, CD184 y HLA-DR (Fig. 1). El Cariotipo cromosómico de PD-MSC

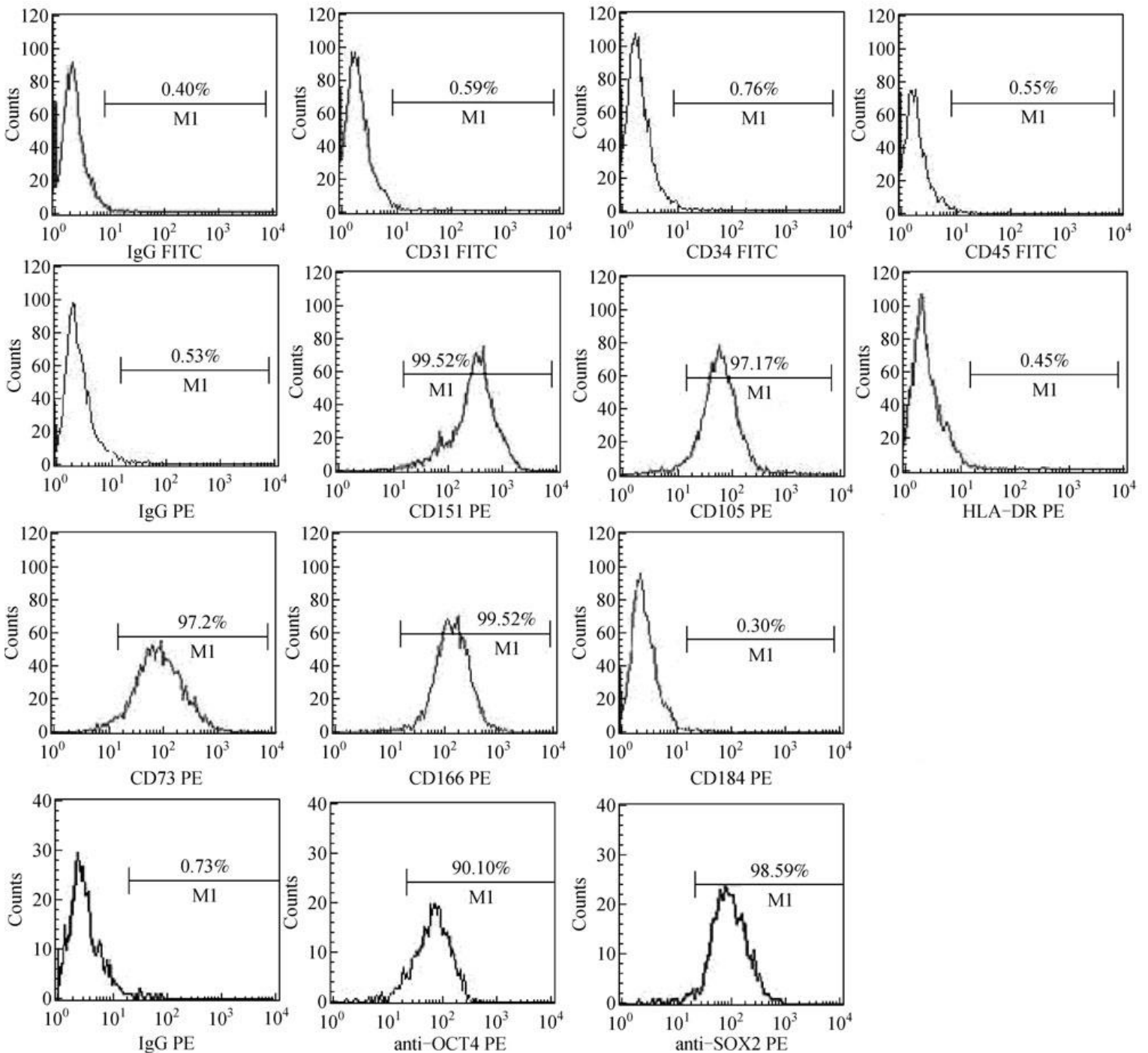


Fig. 1 Inmunofenotipo de placenta derivado de células madre mesenquimales (MSC-PD). El PD-MSC fueron aisladas de tejidos de placenta humana, cultivados y ampliados en laboratorio GMP en cinco pasajes, y se analizaron por FACS.

fue normal. La preparación de la EP-MSC fue estéril y los exámenes de micoplasma, VHB, VHC, VIH, EBV,

CMV, sífilis, y las pruebas de endotoxinas fueron todas calificadas.

## 2.5 Tratamiento

Los pacientes recibieron tres infusiones intravenosas de PDMSC, con un intervalo de un mes entre cada infusión. El número total de PD-MSC para cada paciente se encontraba en  $(1.22 - 1.51) \times 10^6 / \text{kg}$ , con un promedio de  $1.35 \times 10^6 / \text{kg}$ . Al mismo tiempo, los pacientes continuaron la aplicación de insulina, y se ajustó la dosis de insulina de acuerdo a los niveles de glucosa en la sangre. Para las complicaciones, los tratamientos generales originales se mantuvieron. Todos los pacientes tuvieron seguimiento durante al menos 3 meses después de la terapia.

## 2.6 Análisis estadístico

El programa estadístico para las Ciencias Sociales (Release 13.0, PC con Windows, SPSS Inc., Chicago, IL) fue utilizado para el análisis de los datos. Los datos fueron expresados como media  $\pm$  DE. La Prueba-T pareada se utilizó para las pruebas de significación y el análisis de correlación Pearson se utilizó para encontrar la correlación entre variables independientes. Un valor de  $p < 0,05$  fue considerado estadísticamente significativo.

## 3 Resultados

Un total de 10 pacientes con diabetes tipo 2 (7 hombres) fueron incluidos en este estudio. La Tabla 1 muestra una reducción en la insulina en una media de 63,7 a 34,7 UI después de 3 veces de la toma del tratamiento con PD-MSC en este grupo de 10 pacientes, lo cual fue estadísticamente significativo ( $P < 0,01$ ). Cuatro pacientes tuvieron una reducción de requerimientos de insulina en  $> 50\%$ , de los cuales 3 casos eran positivos para pacientes con anti-isletos de células anticuerpos y antiácido glutámico descarboxilasa.

El tratamiento de la EP-MSC también mejoró significativamente el nivel de hemoglobina glucosilada en pacientes con diabetes tipo 2. Como se puede ver en la Tabla 2, todos los valores medios de Hemoglobina glucosilada de los 10 pacientes disminuyó significativamente, de 9,8% a 6,7% después del tratamiento con PD-MSC ( $P < 0,05$ ). Se llevó a cabo el análisis de correlación entre el péptido C e insulina antes y después del tratamiento con PD-MSC y una correlación significativa se observó para el péptido C y la insulina, con  $\gamma = 0,992$  ( $p < 0,01$ ), y  $\gamma = 0,931$  ( $P < 0,01$ ), respectivamente. Los pacientes no detuvieron la aplicación de insulina durante el período de tratamiento con PD-MSC humana. Para excluir los efectos de la insulina exógena, lo que podría positivamente influenciar la función de las células de islote, los valores de insulina y péptido C se midieron simultáneamente. Los cuadros 3 y 4 se muestran los resultados de las evaluaciones. En cada punto de tiempo después

**Tabla 1 Dosis de insulina (UI) antes y después del tratamiento**

| Paciente                      | 1  | 2  | 3  | 4  | 5  | 6  | 7  | 8  | 9  | 10 | media+-DE   |
|-------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-------------|
| pre-tratamiento               | 48 | 60 | 68 | 76 | 76 | 90 | 66 | 58 | 87 | 38 | 63.7+-18.7  |
| 6 meses luego del tratamiento | 20 | 36 | 18 | 54 | 46 | 50 | 36 | 32 | 39 | 16 | 34.7+-13.4* |

**Tabla 2 Cambios en la hemoglobina glicosilada (%) antes y después del tratamiento**

| Paciente                      | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6    | 7    | 8   | 9    | 10  | media+-DE |
|-------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|-----|------|-----|-----------|
| pre-tratamiento               | 8.1 | 9.5 | 8.9 | 9.1 | 8.9 | 13.6 | 13.6 | 8.2 | 11.0 | 7.5 | 9.8+-2.2  |
| 6 meses luego del tratamiento | 6.5 | 6.1 | 4.6 | 6.0 | 6.0 | 7.5  | 7.8  | 6.3 | 9.1  | 6.9 | 6.7+-1.2* |

**Tabla 3 Niveles de insulina ( $\mu\text{IU/mL}$ ) antes y después del tratamiento (n=10)**

| tiempo ( min)                 | 0         | 30        | 60         | 120        | media+-DE  |
|-------------------------------|-----------|-----------|------------|------------|------------|
| pre-tratamiento               | 7.6_4.8   | 12.3_6.2  | 18.2_11.4  | 24.7_20.1  | 16.6_13.5  |
| 6 meses luego del tratamiento | 11.1_5.1* | 17.7_7.4* | 24.6_12.2* | 31.0_19.8* | 21.6_13.7* |

Los niveles de insulina se midieron antes y después del tratamiento. En cada punto de tiempo después del tratamiento, los niveles de insulina fueron mayores a los niveles antes del tratamiento, lo cual fue estadísticamente significativo. \*  $P < 0,01$

**Tabla 4 Niveles de péptido-C ( $\text{ng/mL}$ ) antes y después del tratamiento (n=10)**

| tiempo ( min)                 | 0        | 30       | 60       | 120      | media+-DE |
|-------------------------------|----------|----------|----------|----------|-----------|
| pre-tratamiento               | 2.6_2.1  | 3.3_2.4  | 4.5_3.0  | 5.6_4.0  | 4.1_3.7   |
| 6 meses luego del tratamiento | 3.5_2.3* | 5.3_3.3* | 6.4_3.3* | 8.2_3.9* | 5.6_3.8*  |

Los niveles de péptido C se midieron en diferentes momentos después del tratamiento. En cada punto de tiempo después del tratamiento, los niveles de péptido C fueron más altos que los niveles antes tratamiento, lo cual fue estadísticamente significativo. \*  $P < 0,05$

el tratamiento, la insulina y los niveles de péptido C fueron superiores a aquellos antes del tratamiento, lo cual fue estadísticamente significativo ( $P < 0,05$ ). Ningún efecto secundario evidente, incluyendo fiebre, escalofríos, daño en el hígado y la respuesta de rechazo inmune se observó después del trasplante de células. Por otra parte, la función renal y cardíaca mostraron diversos grados de mejoría después de la infusión de PD-MS. Los diez pacientes eran negativos a anticuerpos anti-insulina antes y después del tratamiento. Tres pacientes fueron positivos a los anticuerpos del antiácido glutámico descarboxilasa de los islotes de células antes del tratamiento. Dos casos se convirtieron en sospechosamente positivos, mientras que el otro no tuvo ningún cambio después del tratamiento celular.

#### 4 Discusión

Este estudio piloto evalúa la seguridad y eficacia del alogénico PD-MS en pacientes con diabetes tipo 2. El grupo de 10 los pacientes que recibieron este tratamiento tenía un largo historial de diabetes tipo 2. Se les aplicó un promedio de 63,7 unidades de insulina antes del tratamiento. Todos estos pacientes tenían disfunción de las células de los islotes pancreáticos en los diferentes niveles, grandes fluctuaciones en la sangre la glucosa y complicaciones con el corazón, cerebro y riñón. El trasplante de PD-MS redujo el requerimiento diario de insulina, se controló las fluctuaciones de glucosa en la sangre y se logró una mejora de su calidad de vida. Como se pudo observar durante el estudio, la glucosa en la sangre comenzó una disminución en el 7<sup>o</sup> día después del trasplante de PD-MS, en consecuencia, el requerimiento de insulina se reduce gradualmente. Después de tres veces de administración de PD-MS, la dosis media de insulina se redujo de 63,7 hasta 34,7 IU, lo que duró tres meses. Por lo tanto, el trasplante de PD-MS podría ser considerado como un enfoque terapéutico efectivo para el tipo 2 de diabetes. Cuatro pacientes mostraron una reducción de la dosis media diaria de insulina de  $\geq 50\%$ , lo que alcanzó un nivel de eficacia igual al del trasplante de células de los islotes, pero con un costo mucho menor y sin respuesta inmune.

La hemoglobina glucosilada (HbA1c) es un buen indicador para los niveles de glucosa en la sangre por sus características de más objetividad y menor susceptibilidad a la dieta, ejercicio y otros factores de interferencia. Por lo tanto, siempre actúa como un valor complementario de los valores de los puntos de glucosa en la sangre.

En este grupo de pacientes, hubo una disminución de HbA1c del 9,8% al 6,7% en promedio, cerrando a su nivel normal. Esto apoya el concepto de que los trasplantes alogénicos de PD-MS son eficaces en el tratamiento de la diabetes tipo 2.

Los resultados en las pruebas de la liberación de insulina demostraron que PD-MS tenía un efecto clínico significativo sobre la mejora de la función de células de islote y reducen las fluctuaciones de glucosa en sangre en pacientes con Diabetes tipo 2. Para descartar la posibilidad de interferencias de insulina exógena en la prueba y para reflejar con precisión la función de las células  $\beta$  del islote, se evaluó la eficacia de PD-MS principalmente de acuerdo a los valores de péptido-C. Después de trasplante de PD-MS, el nivel de péptido C aumentó en cada punto del tiempo, y no fueron estadísticamente significativas las diferencias entre los valores de cada dos puntos de tiempo, lo que indica que la función de las células  $\beta$  se ha mejorado y la secreción de insulina por lo tanto, se incrementó. Para determinar las interferencias de la insulina exógena en la prueba de liberación de insulina, se hicieron determinaciones simultáneas de la insulina y el péptido C antes y después del trasplante de células, y analizó su correlación. Se observó una correlación positiva entre la insulina y péptido C. Por lo tanto, se confirmó que la insulina exógena tuvo poco efecto en la prueba, sin embargo, por alguna razón incierta.

Consideramos interesante notar que tres pacientes con anticuerpos anticelulares de islote y anticuerpos antiácido glutámico descarboxilasa también tuvieron una reducción en la dosis diaria insulina del  $\geq 50\%$  después de un trasplante de PD-MS. Esto puede sugerir que el EP-MS juega un papel inmunorregulador. Se ha informado que entre los pacientes diabetes tipo 2, algunos de ellos pueden tener diabetes autoinmune latente en adultos (LADA) [2,6,26,40], cuyos anticuerpos anti-islotes de células y anticuerpos antiácido -glutámico descarboxilasa son positivos debido a una posible respuesta inmune. Sin embargo, hasta ahora, no hay un estándar uniforme para el diagnóstico de la LADA, por lo que no se excluyen estos tres casos. El mecanismo del mostrado en la mejora de las funciones de las células  $\beta$  después de un trasplante de PD-MS no está claro en la actualidad. En primer lugar, se estudios anteriores indicaban que el PD-MS puede diferenciarse en los islotes de células  $\beta$  y luego en la insulina secretada. Algunos experimentos han confirmado que varias fuentes de MSC podrían ser diferenciadas en células  $\beta$  [28-31]. Además, los PD-MS trasplantados en el páncreas pueden diferenciarse en células vasculares endoteliales y mejorar el suministro sanguíneo del tejido del páncreas para restaurar la función de las células  $\beta$  [16,41,42]. Por último, el PD-MS puede secretar una serie de citoquinas, que puede directa o indirectamente, mejorar la función de los islotes y las complicaciones relacionados [43]. Phinney y Prockop cree que una variedad de citocinas solubles secretadas por el MSC hizo mucho

más para reparar el tejido que la diferenciación celular [42]. en nuestro otro estudio (no publicado aún), se observó que PDMSC puede secretar más insulina-como factor de crecimiento (IFG), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y los hepatocitos del factor de crecimiento (HGF) de MSC de médula ósea, y estas citocinas probablemente desempeñan un papel en la reparación de tejido pancreático. Para nuestro conocimiento, este es el primer ensayo clínico en el mundo para tratar la diabetes tipo 2 mediante el trasplante alogénico de PD-MSC. Los resultados obtenidos en el período inicial de diez pacientes con diabetes tipo 2 sugieren que el trasplante de PD-MSC representa un enfoque simple, seguro, eficiente y terapéutico para diabetes tipo 2. Este tratamiento parece aún capaz de mejorar las funciones renales dañadas y la función cardíaca en la mayoría de los pacientes. En realidad, un ensayo clínico aleatorizado y controlado con placebo de fase II de se ha iniciado en varios centros con el fin de fundamentar el papel del trasplante alogénico de PDMSC en el manejo de diabetes tipo 2.

## Referencias

1. Yang W, Lu J, Weng J P, Jia W, Ji L, Xiao J, Shan Z, Liu J, Tian H, Ji Q, Zhu D, Ge J, Lin L, Chen L, Guo X, Zhao Z, Li Q, Zhou Z, Shan G, He J. Prevalence of diabetes among men and women in China. *N Engl J Med*, 2010, 362(12): 1090–1101
2. Hu D, Sun L, Fu P, Xie J, Lu J, Zhou J, Yu D, Whelton P K, He J, Gu D. Prevalence and risk factors for type 2 diabetes mellitus in the Chinese adult population: the InterASIA Study. *Diabetes Res Clin Pract*, 2009, 84(3): 288–295
3. Kobayashi N, Yuasa T, Okitsu T. Regenerative medicine for diabetes mellitus. *Cell Transplant*, 2009, 18(5): 491–496
4. Li G, Zhang P, Wang J, Gregg EW, Yang W, Gong Q, Li H, Li H, Jiang Y, An Y, Shuai Y, Zhang B, Zhang J, Thompson TJ, Gerzoff RB, Roglic G, Hu Y, Bennett PH. The long-term effect of lifestyle interventions to prevent diabetes in the China Da Qing Diabetes Prevention Study: a 20-year follow-up study. *Lancet*, 2008; 24:371 (9626):1783–1789
5. Ciceri F, Piemonti L. Bone marrow and pancreatic islet: an old story with new perspectives. *Cell Transplant*, 2010 Aug 17
6. Kodama S, Kühtreiber W, Fujimura S, Dale E A, Faustman D L. Islet regeneration during the reversal of autoimmune diabetes in NOD mice. *Science*, 2003, 302(5648): 1223–1227
7. Pittenger M F, Mackay A M, Beck S C, Jaiswal R K, Douglas R, Mosca J D, Moorman M A, Simonetti D W, Craig S, Marshak D R. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 1999, 284(5411): 143–147
8. Deans R J, Moseley A B. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Exp Hematol*, 2000, 28(8): 875–884
9. Gronthos S, Franklin D M, Leddy H A, Robey P G, Storms R W, Gimble J M. Surface protein characterization of human adipose tissue-derived stromal cells. *J Cell Physiol*, 2001, 189(1): 54–63
10. Erices A, Conget P, Minguell J J. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br J Haematol*, 2000, 109(1): 235–242
11. Lu L L, Liu Y J, Yang S G, Zhao Q J, Wang X, Gong W, Han Z B, Xu Z S, Lu Y X, Liu D, Chen Z Z, Han Z C. Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials. *Haematologica*, 2006, 91(8): 1017–1026
12. In 't Anker P S, Scherjon S A, Kleijburg-van der Keur C, de Groot-Swings G M, Claas F H, Fibbe W E, Kanhai H H. Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta. *Stem Cells*, 2004, 22(7): 1338–1345
13. Zheng C L, Yang S G, Guo Z X, Liao W, Zhang L, Yang R, Han Z C. Human multipotent mesenchymal stromal cells from fetal lung expressing pluripotent markers and differentiating into cell types of three germ layers. *Cell Transplant*, 2009, 18(10): 1093–1109
14. Chen K, Wang D, Du W T, Han Z B, Ren H, Chi Y, Yang S G, Zhu D, Bayard F, Han Z C. Human umbilical cord mesenchymal stem cells hUC-MSCs exert immunosuppressive activities through a PGE2-dependent mechanism. *Clin Immunol*, 2010, 135(3): 448–458
15. Wang D, Chen K, Du W T, Han Z B, Ren H, Chi Y, Yang S G, Bayard F, Zhu D, Han Z C. CD14+ monocytes promote the immunosuppressive effect of human umbilical cord matrix stem cells. *Exp Cell Res*, 2010, 316(15): 2414–2423
16. Liao W B, Xie J, Zhong J, Liu Y J, Du L, Zhou B, Xu J, Liu P X, Yang S G, Wang J M, Han Z B, Han Z C. Therapeutic effect of human umbilical cord multipotent mesenchymal stromal cells in a rat model of stroke. *Transplantation*, 2009, 87(3): 350–359
17. Zhao Q J, Ren H Y, Li X Y, Chen Z, Zhang X Y, Gong W, Liu Y J, Pang T X, Han Z C. Differentiation of Human umbilical cord mesenchymal stem cells into low immunogenic hepatocyte-like cells. *Cytotherapy*, 2009, 11(4): 414–426
18. Wu K H, Mo X M, Zhou B, Lu S H, Yang S G, Liu Y L, Han Z C. Cardiac potential of stem cells from whole human umbilical cord tissue. *J Cell Biochem*, 2009, 107(5): 926–932
19. Garcia-Olmo D, Herreros D, Pascual I, Pascual J A, Del-Valle E, Zorrilla J, De-La-Quintana P, Garcia-Arranz M, Pascual M. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula: a phase II clinical trial. *Dis Colon Rectum*, 2009, 52(1): 79–86
20. Hare J M, Traverse J H, Henry T D, Dib N, Strumpf R K, Schulman S P, Gerstenblith G, DeMaria A N, Denktas A E, Gammon R S, Hermiller J B Jr, Reisman M A, Schaer G L, Sherman W. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*, 2009, 54(24): 2277–2286
21. Horwitz E M, Prockop D J, Fitzpatrick L A, Koo W W, Gordon P L, Neel M, Sussman M, Orchard P, Marx J C, Pyeritz R E, Brenner M K. Transplantability and therapeutic effects of bone marrow-derived

- mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta. *Nat Med*, 1999, 5(3): 309–313
22. Kebriaei P, Isola L, Bahceci E, Holland K, Rowley S, McGuirk J, Devetten M, Jansen J, Herzig R, Schuster M, Monroy R, Uberti J. Adult human mesenchymal stem cells added to corticosteroid therapy for the treatment Blood Marrow Transplant, 2009, 15(7): 804–811
23. Le Blanc K, Frassoni F, Ball L, Locatelli F, Roelofs H, Lewis I, Lanino E, Sundberg B, Bernardo ME, Remberger M, Dini G, Egeler R M, Bacigalupo A, Fibbe W, Ringdén O. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet*, 2008, 371(9624): 1579–1586
24. Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B, Götherström C, Hassan M, Uzunel M, Ringdén O. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet*, 2004, 363(9419): 1439–1441
25. Lee P H, Kim J W, Bang O Y, Ahn Y H, Joo I S, Huh K. Autologous mesenchymal stem cell therapy delays the progression of neurological deficits in patients with multiple system atrophy. *Clin Pharmacol Ther*, 2008, 83(5): 723–730
26. Bhansali A, Upreti V, Khandelwal N, Marwaha N, Gupta V, Sachdeva N, Sharma R R, Saluja K, Dutta P, Walia R, Minz R, Bhadada S, Das S, Ramakrishnan S. Efficacy of autologous bone marrow-derived stem cell transplantation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Stem Cells Dev*, 2009, 18(10): 1407–1416
27. Lin G, Wang G, Liu G, Yang L J, Chang L J, Lue T F, Lin C S. Treatment of type 1 diabetes with adipose tissue-derived stem cells expressing pancreatic duodenal homeobox 1. *Stem Cells Dev*, 2009, 18(10): 1399–1406
28. Liu M, Han Z C. Mesenchymal stem cells: biology and clinical potential in type 1 diabetes therapy. *J Cell Mol Med*, 2008, 12(4): 1155–1168
29. Santana A, Enseñat-Waser R, Arribas M I, Reig J A, Roche E. Insulin-producing cells derived from stem cells: recent progress and future directions. *J Cell Mol Med*, 2006, 10(4): 866–883
30. Wang H S, Shyu J F, Shen WS, Hsu H C, Chi T C, Chen C P, Huang S W, Shyr Y M, Tang K T, Chen T H. Transplantation of insulin producing cells derived from umbilical cord stromal mesenchymal stem cells to treat NOD mice. *Cell Transplant*, 2010 Aug 18
31. Zhang Y, Dou Z. Transdifferentiation of bone marrow mesenchymal stem cell into islet cells to treat diabetes mellitus. *J Cell Biol*, 2007, 29: 1–5
32. Brooke G, Rossetti T, Pelekanos R, Ilic N, Murray P, Hancock S, Antonenas V, Huang G, Gottlieb D, Bradstock K, Atkinson K. Manufacturing of human placenta-derived mesenchymal stem cells for clinical trials. *Br J Haematol*, 2009, 144(4): 571–579
33. Tran T C, Kimura K, Nagano M, Yamashita T, Ohneda K, Sugimori H, Sato F, Sakakibara Y, Hamada H, Yoshikawa H, Hoang S N, Ohneda O. Identification of human placenta-derived mesenchymal stem cells involved in re-endothelialization. *J Cell Physiol*, 2011, 226(1): 224–235
34. Fukuchi Y, Nakajima H, Sugiyama D, Hirose I, Kitamura T, Tsuji K. Human placenta-derived cells have mesenchymal stem/progenitor cell potential. *Stem Cells*, 2004, 22(5): 649–658
35. Hwang J H, Shim S S, Seok O S, Lee H Y, Woo S K, Kim B H, Song H R, Lee J K, Park Y K. Comparison of cytokine expression in mesenchymal stem cells from human placenta, cord blood, and bone marrow. *J Korean Med Sci*, 2009, 24(4): 547–554
36. Parolini O, Alviano F, Bagnara G P, Bilic G, Bühring H J, Evangelista M, Hennerbichler S, Liu B, Magatti M, Mao N, Miki T, Marongiu F, Nakajima H, Nikaido T, Portmann-Lanz C B, Sankar V, Soncini M, Stadler G, Surbek D, Takahashi T A, Redl H, Sakuragawa N, Wolbank S, Zeisberger S, Zisch A, Strom S C. Concise review: isolation and characterization of cells from human term placenta: outcome of the first international Workshop on Placenta Derived Stem Cells. *Stem Cells*, 2008, 26(2): 300–311
37. Dzierzak E, Robin C. Placenta as a source of hematopoietic stem cells. *Trends Mol Med*, 2010, 16(8): 361–367
38. Lee L K, Ueno M, Van Handel B, Mikkola H K. Placenta as a newly identified source of hematopoietic stem cells. *Curr Opin Hematol*, 2010, 17(4): 313–318
39. Evangelista M, Soncini M, Parolini O. Placenta-derived stem cells: new hope for cell therapy? *Cytotechnology*, 2008, 58(1): 33–42
40. Zhou J, Ma X J, Bao Y Q, Pan X P, Lu W, Hu C, Xiang K S, Jia W P. Study on prevalence of latent autoimmune diabetes in adults and its relationship with metabolic syndrome. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2009, 89(18): 1250–1254
41. Salem H K, Thiemermann C. Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status. *Stem Cells*, 2010, 28(3):585–596
42. Phinny D G, Prockop D J. Concise review: mesenchymal stem/ multipotent stromal cells: the state of transdifferentiation and modes of tissue repair—current views. *Stem Cells*, 2007, 25(11):2896– 2902
43. Horwitz E M, Prather W R. Cytokines as the major mechanism of mesenchymal stem cell clinical activity: expanding the spectrum of cell therapy. *Isr Med Assoc J*, 2009, 11(4): 209–211