

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO *LATO SENSU* EM BIOLOGIA CELULAR E TECIDUAL

CÉLULAS TRONCO DO SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL (SCU)
E SUAS APLICAÇÕES

CURITIBA

2010

BRUNA GELMINI PIMENTEL

**CÉLULAS TRONCO DO SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL (SCU)
E SUAS APLICAÇÕES**

Monografia apresentada ao Programa de Pós-graduação *lato sensu* em Biologia Celular e Tecidual da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Biologia Celular e Tecidual, sob a orientação da professora Dr^a. Flavia Sant'Anna Rios

CURITIBA

2010

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Dr^a. Flavia Sant'Anna Rios pelo incentivo, paciência e pelo tempo dedicado à elaboração desse trabalho.

Aos meus pais, Edu e Cleonice, e a minha irmã Flavia, pelo amor, esforço e incentivo permanente, em todos os momentos desta e de outras caminhadas.

Aos meus tios, Gelsi e Mariza, e a minha prima Geórgia, que me acolheram durante o curso, e compartilharam comigo os momentos de tristezas e alegrias, contribuindo para o sucesso dessa importante etapa da minha vida.

Aos meus amigos pelo apoio e paciência nos momentos de incerteza.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	vi
RESUMO.....	vii
1 INTRODUÇÃO.....	8
2 OBJETIVO.....	11
3 METODOLOGIA.....	12
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	13
4.1 DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DAS CÉLULAS TRONCO.....	13
4.2 CÉLULAS DO SANGUE DO CORDÃO UMBILICAL X CÉLULAS DA MEDULA ÓSSEA.....	16
4.3 HISTÓRICO DE TRANSPLANTES DAS CÉLULAS DO SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL.....	21
4.4 COLETA E ARMAZENAMENTO DO SANGUE DO CORDÃO UMBILICAL E PLACENTÁRIO.....	24
4.5 BANCOS DE SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL.....	26
4.6. APLICAÇÕES DAS CÉLULAS DO SCU.....	29
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	39
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática da extração e diferenciação das células tronco pluripotentes.....	15
Figura 2 - Representação esquemática da extração e diferenciação das células tronco multipotentes.....	15
Figura 3 - Coleta do sangue do cordão umbilical.....	25
Figura 4 - (A) Equipamento utilizado para extração de células tronco do SCUP; (B) Tanque de nitrogênio líquido utilizado no armazenamento do SCUP; (C) Bolsa especial utilizada no armazenamento do SCUP.....	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Anvisa - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BDNF - Brain derived nerve growth factor
CMV - Citomegalovírus
COBLT - Cord Blood Transplantation Study
CT - Células tronco
CTA - Células tronco adultas
CTH – Células tronco hematopoiéticas
CTM – Células tronco mesenquimais
DECH - Doença do enxerto contra hospedeiro
EIM - Erros inatos do metabolismo
ELA - Esclerose lateral amiotrófica
HIAE - Hospital Israelita Albert Einstein
IL-10 – Interleucina 10
IL-2 - Interleucina 2
IL-4 - Interleucina 4
INCA – Instituto Nacional do Câncer
MO - Medula óssea
Netcord - Banco de Sangue de Cordão Umbilical Europeu
NYHA - New York Heart Association
SCU - Sangue do cordão umbilical
SCUP- Sangue do cordão umbilical e placentário
TGF- β - Transforming Growth Factor- β
VEGF - Vascular endothelial growth factor

RESUMO

As células tronco são células primordiais, produzidas durante o desenvolvimento do organismo, que possuem alta capacidade de proliferação e auto-renovação, e que dão origem a outros tipos de células mais especializadas. Entre as fontes de células tronco, encontra-se o sangue de cordão umbilical que apresenta um grande número de progenitores hematopoéticos. Essa fonte vem sendo amplamente utilizada em transplantes devido a diversas vantagens, entre elas, a sua imediata disponibilidade. Uma das suas principais aplicações é produzir células e tecidos para terapias medicinais, pois o número de pessoas que necessitam de um transplante excede o número de órgãos disponíveis. As células tronco do SCU oferecem a possibilidade de ser uma fonte de reposição de células e tecidos para tratar um grande número de doenças como leucemias, diabetes mellitus, doenças cardiovasculares, doenças neuronais, patologias ortopédicas, entre outras. Dessa forma, essas células vêm sendo armazenadas em bancos de sangue de cordão umbilical para uso autólogo ou heterólogo. Entretanto, ainda é necessário o conhecimento dos mecanismos intrínsecos capazes de manter as células tronco como tais ou de direcioná-las ao longo dos diversos caminhos de diferenciação.

1. INTRODUÇÃO

As células tronco são células capazes de se dividir indefinidamente, gerando outras células tronco, e que também podem dar origem a células mais especializadas. As células se tornam mais especializadas ao longo de vários ciclos celulares, sendo que o seu potencial de diferenciação diminui gradualmente (GILBERT, 2006).

Podem ser classificadas como *totipotentes* (aquelas capazes de originar tanto um organismo totalmente funcional como qualquer tipo celular) (GAGE, 2000), *pluripotentes* (capazes de originar qualquer tipo de tecido sem, no entanto, originar um organismo completo) (ROBEY, 2000), *multipotentes* (têm capacidade de originar apenas um limitado número de tipos celulares) (GAGE, 2000), e *unipotentes* (conseguem diferenciar-se em um único tipo celular) (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Transplantes de células tronco adultas (CTA) são realizados desde a década de 1950 na forma de transplantes de medula óssea para o tratamento de diferentes doenças que afetam o sistema hematopoético (PEREIRA, 2008).

Em 1974, foi descrita pela primeira vez a existência de células progenitoras hematopoiéticas no sangue do cordão umbilical, sendo também uma importante fonte destas células (ROCHA; GLUCKMAN, 2006).

A utilização de células do sangue de cordão umbilical e placentário (SCUP) possui algumas vantagens sobre as células da medula óssea (MO), tais como a ausência de risco para o doador; são células mais jovens; oferecem menor risco de infecção por Citomegalovírus (CMV) e o vírus Epstein-Barr; apresentam menor

risco de desenvolvimento da doença do enxerto *versus* hospedeiro; e estão disponíveis imediatamente quando necessário, (OLIVEIRA *et al.*, 2006; CRUZ *et al.*, 2009). Além disso, as células do sangue de cordão umbilical são imaturas imunologicamente, não necessitando de uma compatibilidade completa entre doador e receptor (BOUZAS, 2000; OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Por essa razão, tornou-se, nos últimos anos, uma alternativa à medula óssea nos transplantes de células tronco hematopoéticas (ROCHA; GLUCKMAN, 2006).

Em 1988, foi realizado o primeiro transplante bem sucedido de células do SCUP para o tratamento de uma criança de 5 anos com Anemia de Fanconi, em Paris (PEREIRA, 2008; SENEGAGLIA *et al.*, 2009). O primeiro caso de uso do SCUP autólogo foi publicado em 1989, em um paciente com neuroblastoma (FERREIRA *et al.*, 1999).

Segundo o Programa Nacional de Sangue de Cordão Umbilical Norte-americano, até setembro de 2006 foram utilizadas 2.199 unidades de SCUP alogênico, sendo 1.589 para o tratamento de doenças hematológicas, 221 em síndromes de insuficiência medular, 134 em imunodeficiências, 138 em doenças metabólicas, 14 em tumores sólidos e 3 em doenças autoimunes (NATIONAL CORD BLOOD PROGRAM, 2010).

As células tronco do sangue do cordão umbilical têm sido utilizadas em terapias celulares de adultos e crianças, em um número cada vez maior de doenças, sendo em sua maioria doenças hemato-oncológicas, sobretudo doenças malignas, tais como leucemias, linfomas, tumores sólidos, mas também doenças

não malignas como deficiências metabólicas hereditárias (Doença de Krabbe, Síndrome de Hurler), hemoglobinopatias, anemias, imunodeficiências, entre outras (BRUNSTEIN *et al.*, 2007).

Considerando que diversos órgãos e tecidos do corpo humano perdem progressivamente sua capacidade de funcionamento devido a determinadas doenças ou pelo processo natural de envelhecimento, e sabendo-se que as células tronco do sangue de cordão umbilical têm a capacidade de se diferenciar em células altamente especializadas, espera-se apresentar os tratamentos já realizados e as novas expectativas de cura através de terapias com células tronco do sangue de cordão umbilical.

2. OBJETIVO

Apresentar informações referentes aos conceitos e aplicações das células tronco do sangue de cordão umbilical, esclarecendo seu potencial de utilização na medicina regenerativa.

3. METODOLOGIA

Para a elaboração deste trabalho foi realizada uma pesquisa minuciosa de artigos científicos nacionais e internacionais em bases de dados tais como:

- Scielo (<http://www.scielo.org/php/index.php>);
- Biological Abstracts
(<http://www.periodicos.capes.gov.br/portugues/index.jsp>);
- MEDLINE/Pubmed (<http://www.pubmed.com.br>);
- Banco de Teses CAPES (<http://www1.capes.gov.br/bdteses>);
- Portal da informação – UFPR (<http://www.portal.ufpr.br/index.php>);
- Google Acadêmico (<http://scholar.google.com.br/schhp?hl=pt-BR>).

Foram selecionados artigos publicados abordando o tema: “células tronco do sangue do cordão umbilical e suas aplicações”. Os seguintes termos de pesquisa (palavras-chaves e delimitadores) foram utilizados em várias combinações:

- Células tronco / stem cell;
- Sangue do cordão umbilical / Cord blood;
- Terapia celular / stem cell therapy;
- Transplante de células tronco / stem cell transplantation.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. Definição e Classificação das Células tronco

As células tronco (CT) podem ser definidas como células indiferenciadas com alto potencial de proliferação e auto-renovação. Possuem grande capacidade de responder a estímulos externos e dar origem a diferentes linhagens celulares mais especializadas, ao mesmo tempo em que conseguem manter-se no estado indiferenciado (OLIVEIRA *et al.*, 2006; PEREIRA, 2008). Estão presentes na maioria dos tecidos, porém destaca-se sua presença no embrião, no sangue periférico, na medula óssea e no sangue de cordão umbilical (SCU) (NAKAGE *et al.*, 2009).

Embora as propriedades das CT sejam estudadas em camundongos há mais de duas décadas, as primeiras linhagens de CT humanas, capazes de multiplicação por longos períodos em cultura, foram originadas em 1998 a partir de embriões derivados de fertilização *in vitro* (OKAMOTO; CAMPOS, 2004).

Existem diversos tipos de células tronco, que podem ser classificadas de acordo com a sua origem e/ou sua capacidade de diferenciação, podendo dessa forma ser totipotentes, pluripotentes, multipotentes e unipotentes.

As células tronco *totipotentes* podem originar tanto um organismo totalmente funcional, como qualquer tipo celular, inclusive todo o sistema nervoso central e periférico (GAGE, 2000). Correspondem às células do embrião recém-formado e têm potencial para originar até mesmo as células do folheto extra-embriônico que formarão a placenta (ROBEY, 2000). Estão presentes até a

formação do blastocisto, e após se tornam células tronco pluripotentes (GOMES; GRINFELD, 2008).

Aquelas classificadas como *pluripotentes* (Fig. 1) são capazes de originar qualquer tipo de tecido sem, no entanto, originar um organismo completo, devido ao fato de que não podem gerar a placenta e anexos embrionários. Formam a massa celular interna do blastocisto quatro dias após a fecundação e participam da formação de todos os tecidos do organismo (ROBEY, 2000). Estas células têm sido utilizadas na criação de animais transgênicos e possuem uma grande variedade de aplicações clínicas e comerciais. Embora em menor número, estão presentes, também, em indivíduos adultos. Por exemplo, quando provenientes da medula óssea podem originar células do sangue, ossos, cartilagem, músculos, pele e tecido conjuntivo (GAGE, 2000).

As células tronco consideradas *multipotentes* (Fig. 2) têm capacidade de originar apenas um limitado número de tipos celulares, ou seja, são designadas de acordo com o órgão de que derivam, possibilitando a regeneração tecidual (GAGE, 2000). Nesta categoria estão incluídas as células do sangue de cordão umbilical, as de medula óssea e as células tronco existentes dentro de cada tecido adulto, incluindo o sistema nervoso (MENDEZ-OTERO *et al.*, 2009).

As *unipotentes* são aquelas que conseguem apenas diferenciar-se em um único tecido, ou seja, o tecido a que pertencem (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Em linhas gerais, podemos dizer que, quanto mais primitiva na linha de desenvolvimento embrionário, maior é o potencial de diferenciação de uma célula tronco (SOUZA; ELIAS, 2005).

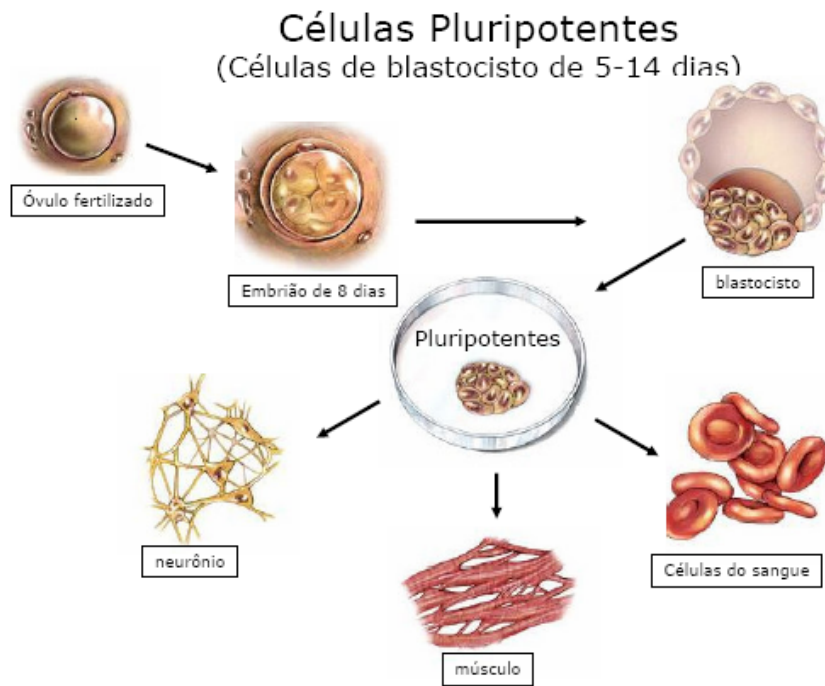


Figura 1. Representação esquemática da extração e diferenciação das células tronco pluripotentes. FONTE: Biossintese (2010).

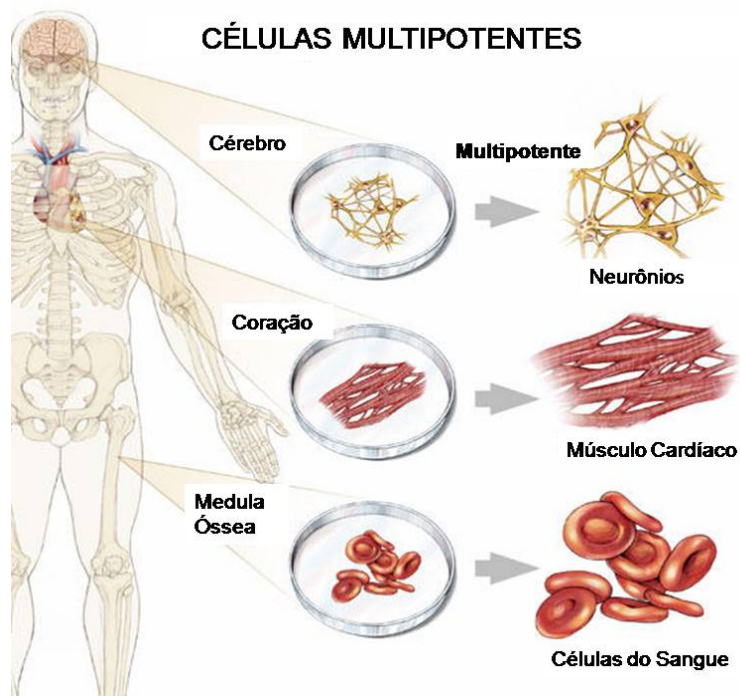


Figura 2. Representação esquemática da extração e diferenciação das células tronco multipotentes FONTE: Biossintese (2010)

4.2. Células do Sangue do Cordão Umbilical x Células da Medula Óssea

Durante o período embrionário as primeiras células sanguíneas originam-se nas ilhotas de sangue no mesoderma ventral, próximo ao saco vitelino. Mais tarde, no feto, o principal sítio de hematopoiese passa a se localizar no fígado (GILBERT, 2006).

A partir do período próximo ao nascimento e no indivíduo adulto, a maioria das células progenitoras hematopoiéticas está localizada na medula óssea, e origina todas as células que constituem o sistema sanguíneo e imunológico, podendo diferenciar-se em linfócitos (B e T), eritrócitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos (precursores de macrófagos e células dendríticas) e megacariócitos (precursores de plaquetas). Uma vez que podem se transformar em tipos diferentes de leucócitos à medida que se diferenciam, as células tronco hematopoiéticas (CTH) têm maior relevância em nível prático, particularmente no tratamento de doenças nas quais é necessário regenerar o sistema sanguíneo e imunológico do paciente (ROCHA; GLUCKMAN, 2006).

Em 1974, foi descrito pela primeira vez a existência de células progenitoras hematopoiéticas no sangue do cordão umbilical, passando a ser considerado também uma importante fonte destas células. Por essa razão, tornou-se, nos últimos anos, uma alternativa à medula óssea nos transplantes de CTH (ROCHA; GLUCKMAN, 2006).

A utilização de células do sangue de cordão umbilical e placentário (SCUP), estas com características pluripotentes, possuem algumas vantagens sobre as células da medula óssea (MO), tais como a ausência de risco para o doador, pois

o método utilizado na coleta não é invasivo; são células mais jovens, ou seja, os telômeros¹ são maiores; oferecem menor risco de infecção por Citomegalovírus (CMV) e o vírus Epstein-Barr; apresentam menor risco de desenvolvimento da doença do enxerto *versus* hospedeiro; e estão disponíveis imediatamente quando necessário, ao contrário dos bancos de medula óssea, que armazenam somente dados sobre o doador (OLIVEIRA *et al.*, 2006; CRUZ *et al.*, 2009).

Além disso, as células do SCU são imaturas imunologicamente. Os linfócitos T do SCUP possuem um fenótipo imaturo, enriquecido de células virgens (expressando CD45RA+RO-) e CD3+ duplo, negativas para CD4 e CD8, produzem menos citocinas e expressam RNA mensageiro para interferon gama, IL-4 (Interleucina 4) e IL- 10 (Interleucina 10), mas muito pouco para IL-2 (Interleucina 2), o que indica a predominância de um padrão Th2, imunorregulador. O repertório de células T então pode ser protegido de apoptose devido aos baixos níveis de CD95 (GARDERET *et al.*, 1998). As funções das células NK também são reduzidas, porém a maioria delas pode ser ativada *in vitro* ou *in vivo*. Assim, a citotoxicidade das células T e NK são inicialmente prejudicadas, porém sujeitas a ativação secundária (BOUZAS, 2000).

Dessa forma, estas células não necessitam de uma compatibilidade completa entre doador e receptor, beneficiando, assim, muitos pacientes, principalmente crianças que sofrem de leucemia (OLIVEIRA *et al.*, 2006; CRUZ *et al.*, 2009).

¹ São longas fitas repetitivas de DNA que se encurtam cada vez que a célula se divide. Esse encurtamento progressivo é considerado um dos fatores que limita ou impossibilita a divisão celular contínua e está associado provavelmente ao processo normal de envelhecimento celular (ALLSOPP *et al.*, 1992).

Os precursores hematopoéticos do SCUP, em comparação com as células adultas, estão enriquecidos com elementos mais primitivos, que dão origem *in vivo* às células responsáveis pelo repovoamento de células sanguíneas em longo prazo. As células tronco do SCUP dão origem a grandes colônias, na presença de fatores de crescimento, e apresentam necessidades peculiares destes. Na presença destes fatores, as culturas *in vitro* de longa duração (*LTC-IC* ou *long term culture-initiating cell*) fornecem elevado número de células progenitoras hematopoiéticas. Estas células são capazes de promover enxertia em camundongos radicalmente imunodeficientes (*SCID mice*) mesmo na ausência de fatores de crescimento (BROXMEYER *et al.*, 1992).

Entretanto, as principais limitações do uso das células do SCUP para transplantes em doenças hematológicas estão relacionadas com o número menor de células obtidas na coleta em relação às células obtidas da medula óssea, limitando seu uso em pacientes com peso até 50-60 Kg. Em contrapartida, as células tronco do SCU apresentam maior capacidade de proliferação e expansão quando comparadas com as células da medula óssea, permitindo assim que o número necessário de células do SCUP utilizado na reconstituição do sistema hematopoético de pacientes que sofreram tratamento mieloablativo seja dez vezes inferior ao número necessário de células provenientes da medula (CRUZ *et al.*, 2009).

As células de medula e de cordão umbilical, entre outros tipos celulares, secretam diversos fatores tróficos como VEGF (*vascular endothelial growth factor*)

e BDNF (*brain derived nerve growth factor*), além de outros fatores neuroprotetores e citocinas (MENDEZ-OTERO *et al.*, 2009).

O sangue do cordão umbilical, além dos progenitores hematopoéticos, contém progenitores mesenquimais e endoteliais. A fração de células CD34+ isoladas do SCUP demonstrou possuir capacidade para se diferenciar em células endoteliais *in vitro* e *in vivo* (HILDBRAND *et al.*, 2004). A quantidade de progenitores endoteliais presentes na fração CD34+ do SCUP é aproximadamente dez vezes maior que a mesma fração encontrada na medula óssea (SALVEN *et al.*, 2003).

As células tronco mesenquimais (CTM) apresentam potencial de auto-renovação e capacidade de diferenciação em osteoblastos, condrócitos, adipócitos e células de músculo liso. Estas células destacam-se por sua plasticidade, pela ausência de expressão de CD34, CD45 e HLA-DR, e pela presença de marcadores tais como SREO-1, VCAM, CD29, CD44, CD90, CD105, SH-3 e CD133 (CRUZ *et al.*, 2009). De acordo com Monteiro e colaboradores (2010), além da capacidade de diferenciação em células dos tecidos músculo-esqueléticos, as CTM possuem características imunomoduladoras e imunossupressoras que ampliam as possibilidades de utilização terapêutica. Elas secretam uma grande variedade de citocinas pró e anti-inflamatórias, tais como IL-10 e TGF- β (*Transforming Growth Factor- β*), além de outros fatores de crescimento. Por meio dessas moléculas bioativas, estas células proporcionam a modulação da resposta inflamatória, o restabelecimento do suprimento vascular e a reparação adequada do tecido, contribuindo para a homeostasia tissular e

imunológica sob condições fisiológicas. Também podem induzir as demais células presentes no nicho tecidual a secretarem outros fatores solúveis que estimulam a diferenciação dessas células indiferenciadas, favorecendo o processo de reparação (MONTEIRO *et al.*, 2010).

Estudos têm demonstrado que as CTM também contribuem favoravelmente no tempo de enxertia da célula tronco hematopoética, na prevenção da doença do enxerto contra hospedeiro (DECH) e ainda podem se diferenciar em células de outras linhagens celulares incluindo neuroectodérmica e endodérmica (GREGORY *et al.*, 2005).

Assim como as células tronco hematopoiéticas, as células tronco mesenquimais derivadas do SCUP apresentam capacidade proliferativa quatro vezes maior, quando comparadas com as células tronco mesenquimais do tecido adiposo e da medula óssea (KERN *et al.*, 2006).

Entretanto, de acordo com MAEDA *et al* (2008), um estudo avaliou a histopatologia da reconstituição da MO, mostrando melhores benefícios na realização de transplantes com células da medula óssea em relação às células do sangue de cordão umbilical. Nas biópsias obtidas até 29 dias após o transplante de MO, a celularidade estava aumentada com a presença de megacariócitos. Neste mesmo período, após o transplante de sangue de cordão umbilical, as biópsias apresentaram uma diminuição acentuada da celularidade e megacariócitos quase ausentes. Além do mais, poucas células CD 34+ foram observadas após o transplante de sangue de cordão umbilical comparado com os transplantes com MO. Houve um aumento gradual da recuperação hematopoiética

da MO após 30 dias do transplante de sangue de cordão umbilical, e após 100 dias nenhuma diferença significativa foi observada comparando-se os transplantes com sangue de cordão umbilical e medula óssea (MAEDA *et al.*, 2008).

4.3. Histórico de Transplantes das Células do Sangue de Cordão Umbilical

Transplantes de células tronco adultas (CTA) são realizados desde a década de 1950 na forma de transplantes de medula óssea para o tratamento de diferentes doenças que afetam o sistema hematopoiético (PEREIRA, 2008). O primeiro transplante de CTA de medula óssea em humanos ocorreu em 1957, em gêmeos univitelinos, para o tratamento de leucemia (ARAÚJO *et al.*, 2005).

A partir do final da década de 1980, o sangue do cordão umbilical e placentário de recém-nascidos tornou-se uma fonte alternativa de células tronco hematopoiéticas. Em 1988, foi realizado o primeiro transplante bem sucedido dessas células para o tratamento de uma criança de 5 anos com Anemia de Fanconi, na França (PEREIRA, 2008; SENEGAGLIA *et al.*, 2009). Neste caso, uma amostra compatível de SCU de um familiar foi recolhida e transplantada na criança. Um ano mais tarde, 98% do sistema linfático do doente eram originários das células do doador. Este procedimento clínico pioneiro veio despertar o interesse sobre o potencial das células tronco do sangue do cordão umbilical no tratamento de diversas doenças (CASTELO- BRANCO *et al.*, 2004).

Em 1993, foi feito o primeiro transplante de SCU de um doador não aparentado na Duke University – EUA (CASTELO- BRANCO *et al.*, 2004).

Em 1997, foi realizado com êxito o transplante de SCU em um homem de 47 anos com leucemia mielóide crônica. Este transplante ocorreu no âmbito de um ensaio clínico utilizando células tronco cultivadas "ex vivo", ou seja, no exterior de um organismo vivo (CORD BLOOD AWARENESS, 2010).

Em 1998, médicos realizam o primeiro transplante bem sucedido de SCU para curar anemia falciforme. Keone Penn, de 12 anos, foi tratado na *Emory University Department of Pediatrics* (EUA), e um ano após o tratamento a criança foi considerada curada (NATIONAL CORD BLOOD PROGRAM, 2010).

Segundo o Programa Nacional de Sangue de Cordão Umbilical Norte-americano, até setembro de 2006 foram utilizadas 2.199 unidades de SCUP alogênico, sendo 1.589 para o tratamento de doenças hematológicas, 221 em síndromes de insuficiência medular, 134 em imunodeficiências, 138 em doenças metabólicas, 14 em tumores sólidos e 3 em doenças autoimunes. Desse total de transplantes, 59,8% foram realizados em crianças com menos de 12 anos, 11,8% em jovens de 12 a 17 anos e 28% em indivíduos acima de 18 anos (NATIONAL CORD BLOOD PROGRAM, 2010). No mesmo período, o Netcord (Banco de Sangue de Cordão Umbilical Europeu) liberou 4.934 unidades de SCUP para uso em transplantes alogênicos, sendo 57% dessas utilizadas em transplantes em crianças e 42% em adultos (CRUZ *et al.*, 2009).

Em um transplante autólogo, onde o paciente utiliza as suas próprias células anteriormente criopreservadas, as aplicações abrangem doenças como retinoblastoma, neuroblastoma e anemia aplásica. No caso de leucemias e linfomas, a utilização autóloga dependerá do quadro clínico do paciente. Nestas,

bem como em certas doenças genéticas e/ou congênitas, a utilização autóloga das células tronco poderá estar limitada devido ao risco das células já estarem afetadas com a patologia. No entanto, um estudo recente indica que a eliminação das células doentes poderá ampliar a utilização de transplantes autólogos a várias doenças (CASTELO – BRANCO *et al.*, 2004).

O primeiro caso de uso do SCUP autólogo foi publicado em 1989, em um paciente com neuroblastoma (FERREIRA *et al.*, 1999). Foi relatado, em 2004, o transplante de SCUP autólogo bem sucedido para pacientes com anemia aplásica grave (FRUCHTMAN, *et al.*, 2004). Nesse caso, uma equipe médica do Mount Sinai Medical Center, Nova York (EUA) relatou o transplante utilizando células tronco criopreservadas. A criança, com 20 meses, possuía uma falha hepática grave de origem desconhecida. Após transplante hepático, a criança desenvolveu anemia aplásica grave. Três anos após o transplante de células tronco do sangue de cordão umbilical, a criança estava em recuperação hematológica completa e com níveis sanguíneos normais (FRUCHTMAN, *et al.*, 2004).

Em 2007, foi divulgado o primeiro transplante autólogo de SCUP para leucemia linfocítica aguda. Neste caso, uma menina de 3 anos foi submetida a radioterapia e quimioterapia mieloblástica seguidas da infusão do sangue de seu próprio cordão umbilical, armazenado imediatamente após seu nascimento. Após 20 meses do tratamento, a criança estava em completa recuperação (HAYANI *et al.*, 2007).

Ainda em 2007, uma criança portuguesa de 14 meses foi sujeita a um transplante com células do SCUP para tratar uma imunodeficiência primária grave.

Os médicos recorreram às células do SCUP do irmão que tinham sido criopreservadas. O transplante foi realizado com sucesso, tendo a criança registrado melhoras significativas (MATOS *et al.*, 2008).

Foi descrito também, segundo o Cord Blood Registry, que 11 unidades de SCUP autólogas foram utilizadas para transplantes em indicações que incluem anemia aplásica, dano cerebral, lesão cerebral traumática e deficiências imunes, porém os resultados desses transplantes ainda não foram publicados (CRUZ *et al.*, 2009).

4.4. Coleta e Armazenamento do Sangue do Cordão Umbilical e Placentário

A coleta do SCUP (Fig. 3) ocorre no nascimento, logo após a secção do cordão umbilical, quando o recém-nascido já está sob os cuidados do pediatra e a mãe está sendo atendida. A veia do cordão é puncionada e o sangue é drenado para o interior de uma bolsa coletora específica. Em seguida, ocorre a retirada da placenta, iniciando a segunda fase, denominada extrauterina, onde o sangue placentário, com ajuda de uma seringa, é retirado antes de sua coagulação, e este também drenado para o interior da mesma bolsa coletora. O procedimento de coleta não traz riscos ao recém-nascido nem a parturiente, pois é feito na placenta e no cordão umbilical, antes destes serem devidamente descartados (CRIOBANCO, 2010; CRYOGENE, 2010).

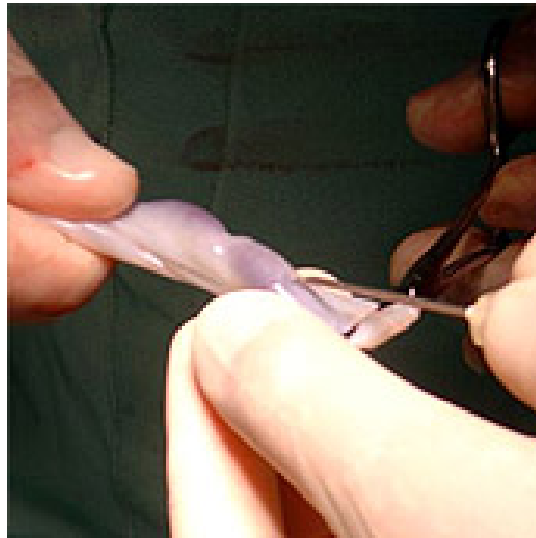


Figura 3. Coleta do sangue do cordão umbilical.
FONTE: Criobanco, 2010.

Após a coleta, a unidade de SCUP coletada é transportada até o laboratório de processamento em caixa térmica, que mantenha a temperatura interior entre 4°C e 24°C. As células devem ser mantidas em temperatura ambiente até que seja realizado o processamento do SCUP, que deve ser feito em até no máximo 48h após a coleta, evitando-se uma possível diminuição de viabilidade celular do material (CRYOGENE, 2010; MATOS *et al.*, 2009).

O sangue é testado para verificar sua viabilidade, para então ser realizado o processamento, ou seja, separação dos leucócitos dos glóbulos vermelhos através de centrifugação (Fig. 4A). Após o processamento, é adicionada uma solução crioprotetora e realizado o congelamento dos leucócitos para, finalmente, serem armazenados em tanques de nitrogênio líquido a -196°C (Fig. 4B), em bolsas especiais para este fim (Fig. 4C). Com isso, as células-tronco são estocadas sob baixas temperaturas e podem permanecer assim por um período ainda não determinado pela ciência (CRYOGENE, 2010).



Figura 4. (A) Equipamento utilizado para extração de células tronco do SCUP. (B). Tanque de nitrogênio líquido utilizado no armazenamento do SCUP. (C) Bolsa especial utilizada no armazenamento do SCUP. FONTE: A e B – Imagens gentilmente cedidas por Cryogene – Criogenia Biológica Ltda (Curitiba – PR); C – MATOS *et al.*, (2009).

4.5. Bancos de Sangue de Cordão Umbilical

Com o intuito de complementar os bancos de doadores de medula óssea, foi inaugurado, em 1993, o primeiro banco de sangue de cordão umbilical para uso público nos Estados Unidos. Até 2008, os Estados Unidos possuíam mais de sessenta mil amostras de SCU armazenadas para uso público, e pretendiam

atingir uma meta de 150 mil amostras (PEREIRA, 2008). Atualmente existem mais de duzentos bancos públicos e privados de SCUP no mundo, armazenando em torno de dois milhões de amostras (SENEGAGLIA *et al.*, 2009).

No Brasil, o Instituto Nacional do Câncer (INCA) inaugurou em 2001 o Banco de Sangue de Cordão Umbilical e Placentário (banco público) localizado no Rio de Janeiro - RJ. Segundo o *site* do INCA, hoje a capacidade deste banco é de cerca de dez mil unidades de sangue de cordão, estando armazenadas até o momento quatro mil amostras (INCA, 2010). Em 2004, foi criada pelo Ministério da Saúde uma rede nacional de bancos de sangue de cordão (Rede BrasilCord), composta pelo INCA, Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE, São Paulo – SP), Hemocentro de Ribeirão Preto (Ribeirão Preto, SP) e Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP, Campinas, SP) (INCA, 2010).

Contudo, até recentemente, apenas o sangue de cordões umbilicais de partos realizados nos estados do Rio de Janeiro e São Paulo eram doados para o BrasilCord. A variabilidade étnica das amostras desse banco de cordão, conseqüentemente, pode ser muito baixa e não representar toda a diversidade genética da nossa população (MONTENEGRO, 2009 apud DEL CARLO *et al.*, 2009).

A legislação brasileira prevê a existência de bancos públicos e privados para o armazenamento de SCUP. Os bancos de SCUP, no Brasil, são regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), tendo as regras de funcionamento definidas pela RDC 153/04 (CRUZ, *et al.*, 2009).

O banco público é destinado à captação de SCUP, coletado em maternidades credenciadas, para uso da população em geral, desde que haja compatibilidade. Nestes bancos o armazenamento do SCUP está condicionado à idade materna (a gestante deve ter entre 18 e 36 anos), idade gestacional (superior a 35 semanas), peso fetal (superior a 2 kg), à inexistência de antecedentes pessoais ou familiares para doenças neoplásicas e/ou hematológicas. A sorologia materna positiva para qualquer doença que possa ser transmitida pelo sangue é também um fator de exclusão para os bancos públicos (CRUZ *et al.*, 2009).

Os bancos privados de armazenamento de SCUP possuem critérios diferentes, uma vez que o material armazenado é para uso autólogo. A coleta do SCUP para armazenamento privado pode ser feita em qualquer maternidade que possua licença sanitária, não havendo restrições quanto à idade materna, tamanho e peso do bebê. A idade gestacional deve ser igual ou superior a 32 semanas. Caso a unidade de SCUP seja reagente na triagem de doenças infecciosas transmissíveis pelo sangue e os pais optarem pela conservação do material, o armazenamento deve ser feito em congelador ou tanque específico para o armazenamento de unidades com testes laboratoriais reagentes na triagem de doenças infecciosas transmissíveis pelo sangue, ou utilizando um sistema de embalagem externa que garanta a proteção das outras unidades criopreservadas com testes sorológicos não reagentes (CRUZ *et al.*, 2009).

Os critérios de exclusão, para ambos os bancos, são sofrimento fetal grave, infecção durante o trabalho de parto, temperatura materna superior a 38°C e bolsa

rota por um período superior a 18 horas. Nos dois tipos de bancos de SCUP, o número de células coletadas deve ser no mínimo de 500 milhões (5×10^8) ou o material ter um volume igual ou superior a 70 mL, para que seja realizado o processamento e armazenamento (CRUZ *et al.*, 2009).

4.6. Aplicações das Células do SCU

Atualmente as células tronco do sangue do cordão umbilical têm sido utilizadas em terapias celulares de adultos e crianças, em um número cada vez maior de doenças, sendo em sua maioria doenças hemato-oncológicas, sobretudo doenças malignas, tais como leucemias, linfomas, tumores sólidos, mas também doenças não malignas como deficiências metabólicas hereditárias (Doença de Krabbe, Síndrome de Hurler), hemoglobinopatias, anemias, imunodeficiências, entre outras (BRUNSTEIN *et al.*, 2007).

A possibilidade de aplicação do sangue do cordão umbilical em doenças não hematológicas tem suscitado bastante interesse, tendo sido desenvolvidos vários ensaios pré-clínicos em modelos animais. O transplante das células do SCU em modelos animais para o tratamento de diabetes, doenças cardíacas tais como infarto do miocárdio, doenças neuronais tais como AVC ou doença de Alzheimer revelou melhorias funcionais nos animais tratados (HARRIS; ROGERS, 2007). A utilidade clínica do SCU para estes tipos de doenças deve ainda ser confirmada em humanos, mas estes ensaios indicam o potencial terapêutico destas células (MATOS *et al.*, 2009).

Doenças cardiovasculares

As doenças cardiovasculares são as que mais afetam a população mundial, seja em prevalência, mortalidade ou impacto econômico (MATHERS; LONCAR, 2006). O infarto do miocárdio é uma das principais causas da insuficiência cardíaca progressiva, responsável pelo alto índice de mortalidade em pacientes cardíacos (KAWASAKI-OYAMA *et al.*, 2004). Esta doença ocorre devido a um bloqueio do suprimento sanguíneo, que rapidamente desencadeia um processo de necrose das bandas de contração do miocárdio (DENGLER; KATUS, 2002).

Recentes estudos sobre a biologia das células tronco criaram muitas expectativas a respeito de uma nova alternativa terapêutica, denominada cardiomioplastia celular, que consiste no transplante de células tronco em lesões cardíacas, com o objetivo de promover a substituição e/ ou regeneração dos cardiomiócitos (KAWASAKI-OYAMA *et al.*, 2004).

A escolha do tipo celular a ser utilizado na cardiomioplastia depende da lesão a ser tratada. Nos casos em que há prevalência de isquemia crônica ou quando o objetivo primário é restaurar o fluxo sanguíneo, as células mais indicadas são aquelas com potencial angiogênico, como por exemplo, temos as células não miogênicas derivadas da medula óssea, as células mononucleadas, as células progenitoras endoteliais ou vasculares, os angioblastos e as células progenitoras multipotentes adultas. Quando o objetivo é recuperar a função contrátil as células mais indicadas são aquelas com potencial contrátil, como os mioblastos, as CT cardíacas ou outras células progenitoras mesenquimais.

Estudos pré-clínicos e clínicos utilizando diferentes tipos celulares mostraram resultados promissores (KAWASAKI-OYAMA *et al.*, 2004).

Em um estudo, foi concluído que o sangue do cordão umbilical induz angiogênese em camundongos NOD/SCID que sofreram previamente um infarto do miocárdio. Nestes animais tratados com SCU verificou-se ainda uma diminuição da área do infarto, indicando um potencial benéfico das células do sangue do cordão umbilical (MA *et al.*, 2005). Em outro estudo, também utilizando camundongos NOD/SCID, foi demonstrada a facilitação de neovascularização nestes animais que receberam implante de células CD133+ de SCUP, após ligação da artéria coronária descendente anterior (MA *et al.*, 2006).

Outros autores demonstraram a diferenciação de células CD133+ de SCUP em células semelhantes a cardiomiócitos, em culturas paralelas à injeção destas mesmas células no miocárdio de ratos. Apesar das células serem alogênicas, não foram constatados eventos de rejeição ou doença enxerto *versus* hospedeiro nesses animais (BONANNO *et al.*, 2007).

Em um trabalho realizado em animais de médio porte (porcos), verificou-se que o transplante de uma população de células tronco de sangue do cordão umbilical, em modelos de isquemia do miocárdio, melhorou a função ventricular, e preveniu a formação de ferida e a dilatação do ventrículo (MATOS *et al.*, 2008).

Embora existam diversos estudos pré-clínicos da aplicação das células de sangue de cordão umbilical no tratamento das doenças cardiovasculares, poucos são os relatos do uso clínico (CRUZ *et al.*, 2009).

Foi reportado, em 2008, o caso de um paciente com cardiomiopatia dilatada tratado com SCUP. O resultado observado foi a melhora da fração de ejeção de 30% para 55% e diminuição na classificação NYHA (New York Heart Association) de insuficiência cardíaca (ICHIM *et al.*, 2008).

Diabetes mellitus

O *diabetes mellitus* é um grupo de desordens metabólicas caracterizado por hiperglicemia crônica resultante de defeitos na secreção e/ou ação da insulina. Esta doença pode ser classificada em tipo 1, tipo 2, diabetes gestacional, entre outras formas (VOLTARELLI *et al.*, 2009). O *diabetes mellitus* tipo 1 é uma doença que resulta da destruição crônica das células β pancreáticas por mecanismos autoimunes mediados por células, como linfócitos T e macrófagos, causando deficiência na produção de insulina (REDONDO *et al.*, 2002).

O cordão umbilical é uma importante fonte de células tronco com potencial de promover diferenciação de células β *in vivo*. Em estudos de transplante xenogênico de células tronco de cordão umbilical, células mononucleares humanas de cordão se mostraram capazes de reduzir a glicemia e a inflamação pancreática e aumentar a sobrevivência de modelos animais de diabetes tipo 1 (ENDE *et al.*, 2004). Até o momento, não há indicação de qual o mecanismo de ação e que tipos de células tronco especificamente seriam responsáveis por este fenômeno (VOLTARELLI *et al.*, 2009).

Na Universidade da Flórida (EUA), vem sendo desenvolvido um protocolo de transplante autólogo de células tronco de cordão umbilical criopreservadas ao nascimento, em pacientes com *diabetes mellitus* tipo 1 (HALLER *et al.*, 2008). Foram examinadas 20 crianças com esta enfermidade, de idades entre dois e sete anos (MATOS *et al.*, 2008). Neste protocolo, estas células são infundidas por veia periférica sem imunossupressão prévia. A principal expectativa é a de que as células infundidas promovam uma modulação da autoimunidade através de células T reguladoras, favorecendo a preservação da massa residual de células e os mecanismos endógenos de regeneração. Todos os vinte pacientes já foram submetidos a este tratamento e aparentemente os resultados são promissores. De dez pacientes que completaram pelo menos um ano de seguimento, houve uma estabilização na secreção endógena de insulina e redução das doses diárias da mesma, porém nenhum paciente permaneceu livre da insulinoaterapia (HALLER *et al.*, 2008).

A principal expectativa é a de que as células infundidas promovam uma modulação da autoimunidade através de células T reguladoras (células com papel central na regulação da resposta imune), favorecendo a preservação da massa residual de células e os mecanismos endógenos de regeneração. Entretanto, desconhecem-se quais são os mecanismos que estão por trás dos efeitos observados, mas sugere-se que as células tronco do SCU quando infundidas nos tecidos se diferenciam em Ilhotas de Langerhans. Apoiando esta idéia foi publicado um estudo que demonstra que as células mesenquimais do sangue do

cordão umbilical humano podem se diferenciar, *in vitro*, em Ilhotas de Langerhans funcionais (MATOS *et al.*, 2008).

Patologias do Sistema Nervoso

O Sistema Nervoso Central e Periférico normais estão em contínua modificação, desde a embriogênese ao envelhecimento, porém apresenta capacidade limitada de auto-regeneração em resposta a doenças ou lesões. As lesões podem ser focais ou difusas, envolvendo necrose ou apoptose do corpo neuronal, de axônios, astrócitos e oligodendrócitos (PAKKENBERG *et al.*, 2003 apud CRUZ *et al.*, 2009; MARNER *et al.*, 2003).

A esclerose lateral amiotrófica (ELA) é um processo degenerativo, esclerótico dos neurônios motores das porções laterais (corno anterior) da medula espinhal, juntamente com o córtex motor e o trato piramidal, levando a fraqueza e atrofia muscular (amiotrofia) (VOLTARELLI, 2004). Para tratar doenças que comprometem especificamente os neurônios motores, como é o caso da ELA, a célula tronco a ser utilizada deverá não somente se diferenciar nestes neurônios, mas também ser capaz de emitir um axônio que navegue até o local a ser innervado e só então a função motora poderia ser restaurada (MENDEZ-OTERO *et al.*, 2009).

A terapia celular em modelos animais ou pacientes com ELA envolveram a injeção endovenosa de células humanas de cordão umbilical em camundongos com a forma genética da doença (mutantes SOD1), com prolongamento

significativo da sobrevida (ENDE *et al.* 2000; GARBUZOVA-DAVIS *et al.*, 2003). A injeção local ou sistêmica de CTH autólogas leva à discreta melhora sintomática, mas sem impacto documentado na sobrevida (VOLTARELLI, 2004).

Em modelos pré-clínicos de isquemia cerebral, foi observado que a injúria cerebral estimula a migração de células do SCUP para o local da lesão e que a recuperação é dose-dependente, ou seja, quanto maior a concentração de células tronco, melhor a recuperação. O uso de células tronco CD34+, 48 horas após o AVC, levou ao aumento da vascularização cerebral local. Apesar da administração das células de SCUP 24 horas após o AVC ter sido eficiente, o tempo ótimo para sua utilização após o acidente não foi estabelecido. Em um trabalho do mesmo grupo, os autores observaram potencial quimiotático para as células mononucleares do SCUP *in vitro* (NEWMAN *et al.*, 2005; VENDRAME *et al.*, 2005).

Em outro estudo foi mostrado que as injeções de células de sangue de cordão umbilical diminuem a reação inflamatória após o AVC, aumentando, assim, a neuroproteção (SANBERG *et al.*, 2005).

Na injeção de células mononucleares do SCUP no tratamento do traumatismo raquimedular, essas células injetadas favorecem a regeneração do tecido nervoso em ratos através da liberação de fatores como VEGF e GDNF (DASARI *et al.*, 2008; KAO *et al.*, 2008). Relatos de casos em humanos descrevem a melhora clínica de pacientes submetidos a injeção de células de SCU que sofreram traumatismo raquimedular (CRUZ *et al.*, 2009).

Erros inatos do metabolismo

Os erros inatos do metabolismo (EIM) são doenças geneticamente determinadas que ocorrem devido a um defeito enzimático específico que determina um bloqueio de uma via metabólica. Este bloqueio ocasiona o acúmulo do substrato inicial, ou a deficiência do produto da reação, ou ainda o desvio da rota metabólica com formação de outro produto final (ARAÚJO, 2004).

O transplante de células tronco alogênicas pode impedir a progressão dos sintomas das doenças de depósito lisossomal e peroxissomal, pelo fornecimento contínuo de enzimas normais provenientes das células do doador (KRIVIT; SHAPIRO, 1999 apud CRUZ *et al.*, 2009). Por mais de duas décadas, o transplante alogênico de células tronco hematopoiéticas mostrou-se benéfico no tratamento da síndrome de Hurler, adrenoleucodistrofia, leucodistrofia metacromática e doença de Krabbe (MARTIN *et al.*, 2006). A utilização de células tronco de SCU nas doenças metabólicas vem aumentando nos últimos anos e os resultados são promissores (MARTIN *et al.*, 2006; PRASAD *et al.*, 2008).

O Cord Blood Transplantation Study (COBLT) realizou um estudo em 69 pacientes com doenças de depósito lisossômico e peroxissomal onde os autores concluíram que o transplante de células de cordão umbilical deve ser considerado tratamento de primeira linha para pacientes jovens portadores destas doenças (MARTIN *et al.*, 2006).

Patologias Ortopédicas

O SCUP é indicado como fonte de células tronco mesenquimais para aplicação em ortopedia. O isolamento e expansão *in vitro* de uma população de células derivadas do próprio paciente, ou de indivíduos compatíveis, capazes de originar diferentes tipos celulares dos tecidos músculo-esqueléticos, proporcionam novas estratégias terapêuticas para muitas doenças ortopédicas (CRUZ *et al.*, 2009).

Foi demonstrado a aplicação de células tronco mesenquimais de SCUP, combinadas a matrizes de colágeno e tricálcio-fosfato, no tratamento de defeito crítico em tíbias de camundongos nu/nu. Os animais tratados com as células expandidas *in vitro* apresentaram aumento significativo na formação de tecido ósseo, quando comparados com os animais que não receberam células (JÄGER *et al.*, 2007).

Estudos demonstram a aplicação de células mononucleares do SCUP no tratamento de lesões isquêmicas de músculo estriado esquelético. Essas células participam diretamente da formação dos novos vasos sanguíneos, ou, indiretamente, através da atividade parácrina, liberando fatores que estimulam a revascularização do tecido que recebeu células (KOPONEN *et al.*, 2007).

Deficiência de adenosina deaminase (ADA)

A adenosina deaminase (ADA) está presente em quase todos os vertebrados, e no homem é encontrada principalmente nos linfócitos, estando diretamente relacionada à ativação dessas células. Dessa forma, em enfermidades em que há maior participação de linfócitos, a ADA geralmente é detectável em níveis elevados (KAISEMANN *et al.*, 2004).

Foi descrito o tratamento de três neonatos com imunodeficiência grave ligada a deficiência de adenosina deaminase (ADA) com células tronco autólogas derivadas de SCU. As células CD34+ foram transfectadas com DNA complementar contendo o gene normal da ADA e transplantadas em esquema não mieloablativo. Foi observada a presença dessas células e a expressão continuada do gene introduzido nos leucócitos da medula e do sangue periférico até 18 meses após o transplante. Esse resultado indica que as células tronco do SCU podem ser modificadas geneticamente e transplantadas em neonatos para terapia gênica (BECKER, 2005).

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As células tronco do sangue de cordão umbilical são uma forte promessa para o tratamento de doenças devastadoras. Apresentam, desde já, inúmeras aplicações terapêuticas no tratamento de doenças hematológicas/oncológicas, justificando assim a sua criopreservação para uso autólogo ou heterólogo.

A possibilidade de aplicação do sangue do cordão umbilical em doenças não hematológicas tem suscitado bastante interesse, e dessa forma estão sendo desenvolvidas várias pesquisas para o transplante das células do SCU no tratamento de doenças como diabetes, doenças cardíacas, doenças neuronais, erros inatos do metabolismo, entre outras, indicando o potencial terapêutico destas células.

Estudos recentes demonstram que o sangue de cordão umbilical é o melhor material para substituir a medula óssea em caso de leucemia, porém existem estudos mostrando melhores benefícios na realização de transplantes com células da medula óssea em relação às células do sangue de cordão umbilical.

Entretanto os resultados ainda são preliminares e por essa razão torna-se necessária muita cautela na execução e divulgação de novas terapias celulares, devendo-se considerar algumas variáveis como fonte, seleção prévia e número de células tronco, mecanismos de ação envolvidos e complicações em longo prazo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLSOPP, R.C., VAZIRI, H., PATTERSON, C., GOLDSTEIN, S., YOUNGLAI, E.V., FUTCHER, A.B., GREIDER, C.W., HARLEY, C.B. Telomere length predicts replicative capacity of human fibroblasts. **Natl. Acad. Sci. USA**, vol. 89, n. 21, p. 10114-10118, 1992.

ARAÚJO A. P. Q. C. Doenças metabólicas com manifestações psiquiátricas. **Rev. Psiq. Clín**, vol. 31, n. 6, p. 285-289, 2004.

ARAÚJO J. D., FILHO J. D. A., CIORLIN E. *et al.* A terapia celular no tratamento da isquemia crítica dos membros inferiores. **J. Vasc Br**, vol. 4, n. 4, p. 357-365, 2005.

BECKER P. S. The current status of gene therapy in autologous transplantation. **Acta Haematol**, vol. 114, n. 4, p. 188-197, 2005.

BIOSSÍNTESE. Afinal, o que são células tronco? Disponível em: <http://biossintese.blogspot.com/2009/05/afinal-o-que-sao-celulas-tronco.html>. Acesso em: 19/09/2010.

BONANNO G., MARIOTTI A., PROCOLI A. *et al.* Human cord blood CD133+ cells immunoselected by a clinical-grade apparatus differentiate *in vitro* into endothelial- and cardiomyocyte-like cells. **Transfusion**, vol. 47, n. 2, p. 280-289, 2007.

BOUZAS L. F. S. Transplante de medula óssea em pediatria e transplante de cordão umbilical. **Medicina**, vol. 33, p. 241-263, 2000.

BROXMEYER H. E., HANGOC G., COOPER S. *et al.* Growth characteristics and expansion of human umbilical cord blood and estimation of its potential for transplantation in adults. **Proc Natl Acad Sci USA** 89, p. 4109-4113, 1992.

BRUNSTEIN C. G., SETUBAL D. C., WAGNER J. E. Expanding the role of umbilical cord blood transplantation. **Br J Haematol**, vol. 137, p. 20-35, 2007.

CASTELO- BRANCO G., GOMES A., GOMES L., SANTOS R. Criopreservação de Células Estaminais do Sangue do Cordão Umbilical, Perspectivas Terapêuticas. **Arquivos Mac (Maternidade Alfredo da Costa)**, 2004.

CORD BLOOD AWARENESS. Disponível em: http://cordbloodawareness.org/history_cord_blood_banking.htm. Acesso em: 22/10/2010.

CRIOBANCO. Disponível em: <http://www.criobanco.com.br/banco-cordao-umbilical.php> Acesso em: 11/09/2010.

CRUZ L. E., JORGE M. C., MACHADO J. J. *et al.* Sangue de cordão umbilical para uso autólogo ou grupo de pacientes especiais. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, vol. 31, supl. 1, p. 36-44, 2009.

CRYOGENE. CRIOGENIA BIOLÓGICA LTDA. Disponível em: <http://www.cryogene.com.br/servicos.php>. Acesso em: 11 de setembro de 2010.

DASARI V. R., SPOMAR D. G., LI L. *et al.* Umbilical cord blood stem cell mediated downregulation of fas improves functional recovery of rats after spinal cord injury. **Neurochem Res**, vol. 33, n. 1, p. 134-149, 2008.

DEL CARLO R. J., MONTEIRO B. S., NETO N. M. A. Avanços no estudo de células-tronco no Brasil e suas implicações. **Revista Ceres**, vol. 56, n. 4, p. 446-450, 2009.

DENGLER T. J., KATUS H. A. Stem cell therapy for the infarcted heart (“cellular cardiomyoplasty”). **Herz**, vol. 7, p. 598-610, 2002.

ENDE N., WEINSTEIN F., CHEN R., ENDE M. Human umbilical cord blood effect on SOD mice (amyotrophic lateral sclerosis). **Life Sci**, vol. 67, p. 53-59, 2000.

ENDE N., CHEN R., REDDI A. S. Effect of human umbilical cord blood cells on glycemia and insulinitis in type 1 diabetic mice. **Biochem Biophys Res Commun**, vol. 325, n. 3, p. 665-669, 2004.

FERREIRA E., PASTERNAK J., BACAL N. *et al.* Autologous cord blood transplantation. **Bone Marrow Transplant**, v. 24, n. 9, p. 1041, 1999.

FRUCHTMAN S. M., HURLET A., DRACKER R. *et al.* The successful treatment of severe aplastic anemia with autologous cord blood transplantation. **Biol Blood Marrow Transplant**, v. 10, n. 11, 741-742, 2004.

GAGE, F. H. Mammalian neural stem cells. **Science**, v. 287, p. 1433-1438, 2000.

GARBUZOVA-DAVIS, S., WILLING A. E., ZIGOVA T. *et al.* Intravenous administration of human umbilical cord blood cells in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis: distribution, migration, and differentiation. **J. Hematother. Stem Cell Res**, vol. 12, p. 255-270, 2003.

GARDERET L., DULPHY N., DOUAY C. *et al.* The umbilical cord Blood alfa beta T cell repertoire: Characteristics of a polyclonal and naive but completely formed repertoire. **Blood**, vol. 91, n. 1, p. 340-346, 1998.

GILBERT S. F. Developmental biology. 8th edition. Sunderland: Sinauer, 2006.

GOMES R. G. C., GRINFELD S. Células-tronco: um breve estudo. **Odontologia. Clín.-Científ**, vol. 7, n. 1, p. 29-33, 2008.

GREGORY C. A., PROCKOP D. J., SPEES J. L. Non-hematopoietic bone marrow stem cells: molecular control of expansion and differentiation. **Exp Cell Res**, vol. 306, n. 2, p. 330-335, 2005.

HALLER M. J., VIENER H. L., WASSERFALL C. *et al.* Autologous umbilical cord blood infusion for type 1 diabetes. **Exp Hematol**, vol. 36, n. 6, p. 710-715, 2008.

HARRIS D. T., ROGERS I. Umbilical cord blood: a unique source of pluripotent stem cells for regenerative medicine. **Curr Stem Cell Res Ther**, vol. 2, p. 301-309, 2007.

HAYANI A., LAMPETER E., VISWANATHA D. *et al.* First report of autologous cord blood transplantation in the treatment of a child with leukemia. **Pediatrics**, vol. 119, n. 1, p. 296-300, 2007.

HILDBRAND P., CIRULLI V., PRINSEN R. C. *et al.* The role of angiopoietins in the development of endothelial cells from cord blood CD34+ progenitors. **Blood**, vol. 104, n. 7, p. 2010-2019, 2004.

ICHIM T. E., SOLANO F., BRENES R., GLENN E. *et al.* Placental mesenchymal and cord blood stem cell therapy for dilated cardiomyopathy. **Reprod Biomed Online**, vol. 16, n. 6, p. 898-905, 2008.

INCA – MINISTÉRIO DA SAÚDE. Disponível em: http://www1.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=2469. Acesso em: 11/09/2010.

JÄGER M., DEGISTIRICI O., KNIPPER A. *et al.* Bone healing and migration of cord blood-derived stem cells into a critical size femoral defect after xenotransplantation. **J Bone Miner Res**, vol. 22, n. 8, p. 1224-1233, 2007.

KAISEMANN M. C., KRITSKI A. L., PEREIRA M. F., TRAJMAN A. Pleural fluid adenosine deaminase detection for the diagnosis of pleural tuberculosis. **J Bras Pneumol**, vol. 30, n. 6, p. 549-56, 2004.

KAO C. H., CHEN S. H., CHIO C. C., LIN M. T. Human umbilical cord blood-derived CD34+ cells may attenuate spinal cord injury by stimulating vascular endothelial and neurotrophic factors. **Shock**, vol. 29, n. 1, p. 49-55, 2008.

KAWASAKI-OYAMA R. S., PAVARINO-BERTELLI E. C., ABBUD FILHO M. *et al.* Cardiomioplastia celular. **Arq Ciênc Saúde**, vol. 11, n. 4, p. 266-271, 2004.

KERN S., EICHLER H., STOEVE J. *et al.* Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. **Stem Cells**, v. 24, n. 5, p. 1294-1301, 2006.

KOPONEN J. K., KEKARAINEN T., HEINONEN S. *et al.* Umbilical cord blood-derived progenitor cells enhance muscle regeneration in mouse hindlimb ischemia model. **Mol Ther**, vol. 15, n. 12, p. 2172-2177, 2007.

KRIVIT W., PETERS C., SHAPIRO E. G. Bone marrow transplantation as effective treatment of central nervous system disease in globoid cell leukodystrophy, metachromatic leukodystrophy, adrenoleukodystrophy, mannosidosis, fucosidosis, aspartylglucosaminuria, Hurler, Maroteaux-Lamy, and Sly syndromes, and Gaucher disease type III. **Curr Opin Neurol**, vol. 12, n. 2, p. 167-76, 1999.

MA N., LADILOV Y., KAMINSKI A. *et al.* Umbilical cord blood cell transplantation for myocardial regeneration. **Transplant Proc**, vol. 38, n. 3, p. 771-773, 2006.

MA N., STAMM C., KAMINSKI A. *et al.* Human cord blood cells induce angiogenesis following myocardial infarction in NOD/scid-mice. **Cardiovasc Res**, vol. 66, n. 1, p. 45-54, 2005.

MAEDA T., SHIOZAWA E., MAYUMI H. *et al.* Histopathology of bone marrow reconstitution after umbilical cord blood transplantation for hematological diseases. **Pathol Int**, vol. 58, n. 2, p. 126-133, 2008.

MARNER L., NYENGAARD J. R., TANG Y., PAKKENBERG B. Marked loss of myelinated nerve fibers in the human brain with age. **J Comp Neurol**, vol. 462, n. 2, p. 144-152, 2003.

MARTIN P. L., CARTER S. L., KERNAN N. A. *et al.* Results of the cord blood transplantation study (COBLT): outcomes of unrelated donor umbilical cord blood transplantation in pediatric patients with lysosomal and peroxisomal storage diseases. **Biol Blood Marrow Transplant**, vol. 12, n. 2, p. 184-194, 2006.

MATHERS C. D., LONCAR D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. **PLoS Med**, vol. 3, n. 11, p. 2011-2030, 2006.

MATOS T., GOMES A., VIEIRA M. Criopreservação de células estaminais do sangue do cordão umbilical: utilização atual e potencialidades em medicina regenerativa. **Patient care**, p. 2-7, 2009.

MATOS T., VIEIRA M., GOMES A. células estaminais do sangue do cordão umbilical – que futuro? **Revista APEO**, n. 9, p. 1-4, 2008.

MENDEZ-OTERO R., GIRALDI-GUIMARÃES A., PIMENTEL-COELHO P. M., FREITAS G. R. Terapia celular no acidente vascular cerebral. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**, vol. 31, supl. 1, p. 99-103, 2009.

MONTEIRO B. S., NETO N. M. A., DEL CARLO R. J. Células-tronco mesenquimais. **Cienc. Rural**, vol. 40, n. 2, publicação online, 2010.

MONTENEGRO K. B (2009) Banco de cordão umbilical: Brasil busca auto-suficiência. Disponível em: <http://www.ghente.org/>.

NAKAGE A. P. M., SANTANA A. E., DE CÁPUA M. L. B., GODOY A. V. Quantificação de células CD34+ do sangue do cordão umbilical de cães. **Cienc. Rural**, v. 39, n. 2, 2009.

NATIONAL CORD BLOOD PROGRAM. Disponível em: <http://www.nationalcordbloodprogram.org/>. Acesso em: 19/09/2010.

NEWMAN M. B., WILLING A. E., MANRESA J. J. *et al.* Stroke-induced migration of human umbilical cord blood cells: time course and cytokines. **Stem Cells Dev**, vol. 14, n. 5, p. 576-586, 2005.

OKAMOTO O. K., CAMPOS A. H. Perspectivas em terapia celular: células-tronco. **Einstein**, vol. 2, n. 4, p. 355-358, 2004.

OLIVEIRA L. A. C., SPONCHIADO G., ADAM M. L. Conceitos e aplicações de células Tronco em medicina regenerativa: uma revisão. **RUBS**, vol. 2, n. 2, p. 32-42, 2006

PAKKENBERG B, PELVIG D, MARNER L. *et al.* Aging and the human neocortex. **Exp Gerontol**, vol. 38, n. 1-2, p. 95-99, 2003.

PRASAD V. K., MENDIZABAL A., PARIKH S. H. *et al.* Unrelated donor umbilical cord blood transplantation for inherited metabolic disorders in 159 pediatric patients from a single center: influence of cellular composition of the graft on transplant outcomes. **Blood** (online publication), 2008.

PEREIRA L. V. A importância do uso das células tronco para saúde pública. **C&SC**, vol. 13, n. 1, p. 7-14, 2008.

REDONDO M. J., EISENBARTH G. S. Genetic control of autoimmunity in Type I diabetes and associated disorders. **Diabetologia**, vol. 45, n. 5, p. 605-622, 2002.

ROBEY, P. G. Stem cells near the century mark. **J. Clin. Invest.**, Thorofare, v. 105, n. 11, p. 1489-1491, 2000.

ROCHA V., GLUCKMAN E. Clinical use of umbilical cord blood hematopoietic stem cells. **Biol Blood Marrow Transplant**, vol. 12, n. 1, p. 34-41, 2006.

SALVEN P., MUSTJOKI S., ALITALO R. *et al.* VEGFR-3 and CD133 identify a population of CD34+ lymphatic/vascular endothelial precursor cells. **Blood**, vol. 101, n. 1, p. 168-172, 2003.

SANBERG P. R., WILLING A. E., GARBUZOVA-DAVIS S. *et al.* Umbilical cord blood-derived stem cells and brain repair. **Ann. N. Y. Acad. Sci**, vol. 1049, p. 67-83, 2005.

SENEGAGLIA A. C., REBELATTO C. L. K., SUSS P. H., BROFMAN P. R. S. Expansão de células tronco da medula óssea e do sangue de cordão umbilical humano. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**, vol. 31, supl. 1, p. 9-14, 2009.

SOUZA M. H. L., ELIAS D. O. As células tronco e o seu potencial na reparação de órgãos e tecidos. **Man Inst Progr: Princ Hemat Hemot**, vol. 5, p. 1-14, 2005.

VENDRAME M., GEMMA C., DE MESQUITA D. *et al.* E. Anti-inflammatory effects of human cord blood cells in a rat model of stroke. **Stem Cells and Development**, vol. 14, n. 5, p. 595-604, 2005.

VOLTARELLI J. C. Perspectivas de terapia celular na esclerose lateral amiotrófica. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**, vol. 26, n. 3, p. 155-156, 2004.

VOLTARELLI J. C., COURI C. E. B., RODRIGUES M. C. *et al.* Terapia celular no diabetes mellitus. . **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**, vol. 31, supl. 1, p. 149-156, 2009.