

Revisão / Review

## Sangue de cordão umbilical para uso autólogo ou grupo de pacientes especiais

### *The potential therapeutic use of cord blood in autologous transplants or in special patients: a review and update*

Luis Eduardo Cruz<sup>1</sup>Maria Claudia Jorge<sup>2</sup>Janaina J. Machado<sup>3</sup>Nelson A. Hosnne Jr.<sup>4</sup>Adriana L. Invitti<sup>5</sup>Alex Balduino<sup>6</sup>Verônica Vianna<sup>7</sup>Saada R. S. Ellovitch<sup>8</sup>Kátia P. T. Urango<sup>9</sup>Ana Paula Meneses-Costa<sup>10</sup>Márcia G. Ribeiro<sup>11</sup>Maria Helena A. Nicola<sup>12</sup>Paul R. Sanberg<sup>13</sup>

O sangue de cordão umbilical e placentário (SCUP) é uma rica fonte de células-tronco (CT) hematopoéticas e é amplamente utilizado como substituto da medula óssea em casos de transplante. As células do SCUP possuem vantagens sobre as células da medula óssea (MO), principalmente por serem mais jovens e apresentarem maior taxa proliferativa. Além dos progenitores hematopoéticos, o sangue de cordão umbilical contém progenitores endoteliais e mesenquimais, sugerindo sua possível aplicação nos novos protocolos de terapia celular para diferentes tecidos. Na presente revisão, discutimos a importância do armazenamento do sangue de cordão umbilical autólogo e as pesquisas desenvolvidas para a sua aplicação em doenças degenerativas. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2009; **31**(Supl. 1):36-44.

**Palavras-chave:** Sangue de cordão umbilical; terapia celular; células-tronco; células mesenquimais; progenitores endoteliais; terapia gênica.

### Introdução

O sangue de cordão umbilical e placentário (SCUP) é conhecido como uma rica fonte de células-tronco (CT) hematopoéticas, que pode ser utilizado como substituto da medula óssea em casos de transplante. As células nucleadas, entre as quais estão as células-tronco, podem ser separadas, quantificadas, processadas e armazenadas a -196°C, mantendo suas características originais para possível aplicação futura.<sup>1</sup>

No Brasil, os bancos de sangue de cordão umbilical e placentário são regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), tendo as regras de funcionamento definidas pela RDC153/04 nas quais estão contempladas todas as etapas envolvidas com esta prestação de serviço.<sup>2</sup>

A Legislação brasileira prevê a existência de bancos públicos e privados para o armazenamento de sangue de cordão umbilical e placentário (SCUP). O banco público é destinado à captação de SCUP, coletado em maternidades

<sup>1</sup>Farmacêutico. Presidente da Cryopraxis Criobiologia Ltda – Rio de Janeiro-RJ.

<sup>2</sup>Farmacêutica. Diretora Técnica da Cryopraxis Criobiologia Ltda – Rio de Janeiro-RJ.

<sup>3</sup>Farmacêutica. Gerente de Produção da Cryopraxis Criobiologia Ltda – Rio de Janeiro-RJ.

<sup>4</sup>Cirurgião Cardíaco – Unifesp, Escola Paulista de Medicina, São Paulo, SP.

<sup>5</sup>Biólogo. Cryopraxis Criobiologia Ltda – Rio de Janeiro-RJ

<sup>6</sup>Biólogo. Coordenador de Pesquisa Básica do Into – Instituto de Traumatologia-ortopedia, Rio de Janeiro-RJ.

<sup>7</sup>Cirurgiã ortopédica. Coordenadora de Desenvolvimento Institucional – Instituto de Traumatologia-ortopedia (Into/RJ), Rio de Janeiro-RJ.

<sup>8</sup>Neuropediatra (Santa Casa de São Paulo), responsável pela Equipe de Neuropediatria do Hospital Samaritano de São Paulo.

<sup>9</sup>Médica hematologista do Serviço de Transplante de Medula Óssea do HUCFF – UFRJ. Cryopraxis Criobiologia Ltda, Rio de Janeiro-RJ.

<sup>10</sup>Médica hematologista. Chefe do Serviço de Hematologia do Hospital Central do Exército – Rio de Janeiro-RJ.

<sup>11</sup>Professora. Departamento de Genética Clínica – IPPMG – UFRJ

<sup>12</sup>Bióloga. Professora da UFRJ. Coordenadora de Pesquisa e Desenvolvimento da Cryopraxis Criobiologia Ltda.

<sup>13</sup>Professor of Medicine. Center of Excellence for Aging & Brain Repair, Department of Neurosurgery, USF. Florida College of Medicine, Tampa, FL

Cryopraxis Criobiologia Ltda – Rio de Janeiro-RJ

**Correspondência:** Luis Eduardo Cruz

Av. Carlos Chagas Filho, 791 – Pólo de Biotecnologia do Rio de Janeiro (BioRio)

Cidade Universitária – Ilha do Fundão

21941-904 – Rio de Janeiro-RJ – Brasil

E-mail: dirplan@cryopraxis.com.br

Doi: 10.1590/S1516-84842009005000027

credenciadas, para uso da população em geral, desde que haja compatibilidade. 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) que não possuam, nos antecedentes pessoais ou familiares, doenças neoplásicas e/ou hematológicas. A sorologia materna positiva para qualquer doença que possa ser transmitida pelo sangue, inclusive IgM positiva para citomegalovírus (CMV), é também um fator de exclusão para os bancos públicos.

Já os bancos de armazenamento de SCUP privados possuem critérios diferentes, uma vez que o material armazenado é para uso exclusivamente autólogo. A captação do SCUP para armazenamento privado pode ser feita em qualquer maternidade que possua licença sanitária, não há restrições quanto à idade materna, tamanho e peso do bebê. A idade gestacional deve ser igual ou superior a 32 semanas e amostras com sorologia positiva podem ser armazenadas se os pais o desejarem. Os critérios de exclusão, para ambos os bancos, são sofrimento fetal grave, infecção durante o trabalho de parto, temperatura materna superior a 38°C, bolsa rota acima de 18 horas. Nos dois tipos de banco de SCUP, o número de células deve ser no mínimo de 500 milhões ou ter um volume de 70 mL, para o processamento.

A utilização de células do SCUP em transplantes apresenta vantagens sobre as células da medula óssea (MO), tais como a ausência de risco para o doador, uma vez que o método de coleta não é invasivo; disponibilidade imediata das células para transplante; células mais jovens (telômeros maiores); maior tolerância imunitária; e menor risco de infecção por CMV e o vírus Epstein-Barr (menos de 0,1% dos recém-nascidos saudáveis são positivos para CMV, contra 10%-60% dos doadores adultos voluntários).<sup>3,4</sup> Entretanto, as principais limitações do uso dessa fonte de células para transplantes em doenças hematológicas estão relacionadas com o número de células obtidas na coleta. Em contrapartida, as células-tronco de sangue de cordão umbilical apresentam maior capacidade de proliferação e expansão quando comparadas com as células da MO. Essa característica permite que o número necessário de células de SCUP utilizado na reconstituição do sistema hematopoético de pacientes que sofreram tratamento mieloablativo seja dez vezes inferior ao número necessário de células derivadas da MO.

O Programa Nacional de Sangue de Cordão Umbilical Americano ([www.nationalcordbloodprogram.org/ncbp\\_diseases.htm](http://www.nationalcordbloodprogram.org/ncbp_diseases.htm)) relacionou, até setembro de 2006, o uso de 2.199 unidades de SCUP alogênico, sendo 1.589 em doenças hematológicas, 138 em doenças metabólicas, 221 em síndromes de insuficiência medular, 134 em imunodeficiências, 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. 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 ([www.netcord.org/inventory.html](http://www.netcord.org/inventory.html)).

Embora em menor número, o SCUP autólogo tem sido utilizado. O primeiro caso, publicado em 1989, descreve o uso do SCUP em paciente com neuroblastoma.<sup>5</sup> Fruchtman e colaboradores<sup>6</sup> e mais tarde Rosenthal e colaboradores<sup>7</sup> relataram o transplante, bem sucedido, de SCUP autólogo para pacientes com anemia aplásica (AA) grave. Em 2007, Hayani e colaboradores<sup>8</sup> publicaram o primeiro transplante autólogo de SCUP para leucemia linfocítica aguda. O Cord Blood Registry relatou que 11 unidades de SCUP autólogas foram usadas para transplantes em indicações que incluem anemia aplásica, dano cerebral, lesão cerebral traumática e deficiências imunes. Entretanto, os resultados desses transplantes ainda não foram publicados.

Além dos progenitores hematopoéticos, o sangue de cordão umbilical contém progenitores endoteliais e mesenquimais. A fração de células CD34+ isoladas do SCUP demonstrou possuir habilidade para se diferenciar em células endoteliais *in vitro* e *in vivo*.<sup>9</sup> Em outro estudo foi demonstrado que as células CD34+ VEGF-R3+ possuíam não apenas a capacidade de se diferenciar em células endoteliais *in vivo*, mas o potencial de expansão *in vitro* em até 40 vezes e subsequentemente manter a capacidade angiogênica *in vivo*. Ademais, o número de progenitores endoteliais presentes na fração CD34+ do SCUP é aproximadamente dez vezes maior que a mesma fração encontrada na MO.<sup>10</sup> As células mononucleares não fracionadas do SCUP já foram aplicadas com sucesso em numerosos modelos animais,<sup>11-13</sup> assim como em estudos clínicos,<sup>14</sup> para a ativação da angiogênese.

As células-tronco mesenquimais, por sua vez, apresentam potencial de auto-renovação e capacidade de diferenciação em osteoblastos, condrócitos adipócitos e células de músculo liso. Atualmente, estas células são definidas classicamente pela capacidade de adesão ao plástico, pela ausência de expressão de CD34, CD45 e HLA-DR, pela presença dos marcadores tais como SREO-1, VCAM, CD29, CD44, CD90, CD105, SH-3 e CD133.<sup>15,16</sup> Além da capacidade de diferenciação em células dos tecidos músculo-esqueléticos, dados recentes sugerem atividade anti-inflamatória e imunomodulatória por parte dessas células.<sup>17</sup> Elas secretam constitutivamente citocinas inibitórias do sistema imune, tais como IL-10 e TGF- $\beta$ , mas apresentam habilidade de apresentar antígenos às células-T, sugerindo uma ação tolerogênica.<sup>17</sup> Assim como as células-tronco hematopoéticas, as células-tronco mesenquimais derivadas do SCUP apresentam potencial proliferativo quatro vezes maior, quando comparadas com as células-tronco mesenquimais da medula óssea e do tecido adiposo.<sup>18</sup>

Devido a essa diversidade, as células do SCUP têm sido usadas em terapias celulares de adultos e crianças, em um número cada vez maior de patologias. Nas estratégias

de redução de tumores sólidos, o tratamento com células-tronco aumenta a sobrevida e reduz os efeitos adversos.<sup>5,19</sup> Nas doenças auto-imunes, como esclerose lateral amiotrófica, esclerose múltipla, artrite reumatóide, lúpus eritematoso sistêmico e diabetes tipo I, os transplantes de SCUP já estão sendo testados.<sup>20,21</sup> Estudos pré-clínicos com CT de SCUP em acidente vascular cerebral (AVC),<sup>22,23</sup> doenças renais,<sup>24,25</sup> doenças cardíacas,<sup>26</sup> doença de Parkinson,<sup>27</sup> Alzheimer<sup>28</sup> e regeneração óssea e de cartilagem têm demonstrado plasticidade das células de sangue de cordão e ampliação do seu espectro de aplicação.

A regulamentação em vigor propõe um controle das etapas como parte de um processo laboratorial. Uma tendência futurista no tratamento desses processos seria a implementação de controles industriais, tratando as células como produto farmacêutico.

Os Estados Unidos possuem normas e *guideline* que visam a regulamentação e avaliação de processos cujo principal produto são células humanas.<sup>29,30,31</sup> Sociedades e comunidades científicas internacionais (ISCT, AABB, EBMT, FACT, JACIE e etc.) estão também envolvidas nos processos legais e constantemente estabelecendo padrões e procedimentos, para que sejam seguidos pelos bancos do mundo inteiro. Nesse aspecto, as regulamentações concordam que a prestação desse tipo de serviço e a obtenção do produto final (células) devem seguir as normas delineadas pelos princípios das boas práticas de fabricação (Good Manufacturing Practices – GMP). Porém, no caso de processos envolvendo células e tecidos, o conceito de boas práticas fica mais abrangente, englobando as boas práticas de fabricação, clínica e laboratorial.

A implementação de um programa de garantia da qualidade tem sido uma exigência constante para que seja garantido um produto final, segundo as boas práticas. Somente a partir da utilização e implementação das regras da GMP pode-se garantir que o produto final obtido pelos bancos de sangue de cordão umbilical possa ser considerado um produto de qualidade e seguro para a utilização.

### **Sangue de cordão umbilical em doenças cardiovasculares**

As doenças cardiovasculares (DCV) são as doenças que mais afetam a população mundial, seja em prevalência, mortalidade ou impacto econômico.<sup>32</sup> A doença arterial coronariana figura entre as mais importantes, sendo responsável por mais da metade de todos os eventos cardiovasculares em homens e mulheres com menos de 75 anos, e 52% de todas as mortes por DCV nos Estados Unidos, em 2004.<sup>33</sup> Com o advento da terapia celular, diferentes grupos de pesquisa no mundo direcionam seus esforços em busca de novos protocolos terapêuticos que promovam a redução da alta taxa de mortalidade e do alto custo com os tratamentos das DCV.

A terapia celular utilizada no tratamento de DCV tem como base a demonstração, em modelos animais e *in vitro*, da capacidade de transdiferenciação de alguns tipos de células-tronco adultas, e a recente descoberta de mecanismos de reparo cardíaco endógenos (substituição do tecido necrótico ou cicatricial por miocárdio viável).<sup>34</sup> Diversos estudos clínicos utilizando células-tronco derivadas de medula óssea e sangue periférico estão em andamento, com o propósito de corroborar os achados dos estudos pré-clínicos. Entretanto, ainda não está claro se a terapia celular com células-tronco derivadas de MO ou sangue periférico é capaz de melhorar a função ventricular esquerda, reduzir a área infartada e remodelamento cardíaco, bem como outros desfechos clínicos possíveis.<sup>35-40</sup> Assim, um dos pontos mais importantes da terapia celular para doenças cardiovasculares será a identificação do tipo celular ideal para aplicação.

Diante deste contexto, o SCUP apresenta grande vantagem como fonte promissora de células para terapia celular em cardiologia, por duas principais razões: as células-tronco de sangue de cordão apresentam maior potencial proliferativo e a coleta é realizada de forma não-invasiva. Ademais, a possibilidade de criopreservação dessas células gera um produto *of the shelf*, disponível prontamente para uso quando necessário.<sup>41</sup>

Ma e colaboradores<sup>42</sup> demonstraram a facilitação de neovascularização em camundongos NOD/SCID que receberam implante de células CD133+ de SCUP, após ligação da artéria coronária descendente anterior. Em um estudo semelhante, Bonnanno e colaboradores<sup>43</sup> 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 reportados eventos de rejeição ou doença enxerto *versus* hospedeiro nesses animais. A diferenciação *in vitro* de células de SCUP em cardiomiócitos também foi reportada por outros autores, demonstrando sua capacidade de diferenciação e seu potencial uso no tratamento das DCV.<sup>44,45</sup> Entretanto, os dados obtidos de estudos com animais de médio porte (porcos) são controversos. Henning e colaboradores<sup>46</sup> demonstraram a diminuição da expressão de citocinas e número reduzido de células inflamatórias nos animais tratados com células mononucleares de SCUP.

A terapia combinada de injeção de células do SCUP com fator de crescimento de fibroblastos (FGF) promoveu a neoangiogênese nas regiões isquêmicas, porém sem efeitos no remodelamento cardíaco ou na melhoria da função ventricular.<sup>47</sup> Utilizando o mesmo modelo de injeção de células de SCUP combinada ao FGF, Hu e colaboradores<sup>48</sup> demonstraram melhora do remodelamento do ventrículo esquerdo e ausência de imunorrejeição após o transplante de SCUP humano em ratos. Resultados similares foram obtidos com a injeção de células CD34+ de SCUP em camundongos em IAM, demonstrando o grande potencial angiogênico das células-tronco de SCUP.<sup>49</sup> Foi observada melhora do desempenho

cardíaco em ratos que receberam células CD34+ de SCUP, sem haver elucidação dos mecanismos relacionados a essa melhoria.<sup>50</sup> Outros autores também reportaram a melhora da função ventricular esquerda após o implante de células-tronco de SCUP.<sup>51,52</sup>

Embora existam diversos estudos pré-clínicos da aplicação das células de sangue de cordão umbilical no tratamento das DCV, poucos são os relatos do uso clínico. Ichim e colaboradores<sup>53</sup> reportaram, 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 de insuficiência cardíaca.

O potencial angiogênico das células do SCUP as torna excelentes candidatas para o tratamento das DCV. A etiologia isquêmica das DCV que possuem maior prevalência na população faz com que essas células possam ser utilizadas na melhora da perfusão do miocárdio isquêmico. A grande capacidade regenerativa e pluripotencialidade das células-tronco de SCUP fazem com que elas, provavelmente, correspondam à melhor opção para a regeneração cardíaca.

### **Sangue de cordão umbilical em traumatologia e ortopedia**

Os progenitores mesenquimais da medula óssea foram primeiramente descritos por Alexander Friedenstein e colaboradores<sup>54,55</sup> e apontados posteriormente como células-tronco por Caplan e colaboradores.<sup>56</sup> Ao contrário das células-tronco hematopoéticas, as células-tronco mesenquimais apresentam ampla capacidade de proliferação *in vitro*<sup>57</sup> com manutenção da sua pluripotencialidade. 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, sugerem novas estratégias terapêuticas para diversas doenças em ortopedia.

Conforme descrito anteriormente, além da medula óssea, o SCUP é apontado como fonte de células-tronco mesenquimais para aplicação em ortopedia. Podendo ser obtidas tanto de sangue fresco quanto congelado,<sup>58</sup> as células-tronco mesenquimais isoladas do sangue de cordão umbilical, quando comparadas com as obtidas da medula óssea, apresentam o mesmo potencial de diferenciação em osteoblastos, condrócitos e adipócitos *in vitro*.<sup>59</sup> Diferentes estudos comprovam o potencial de diferenciação das células-tronco mesenquimais do SCUP em osteoblastos e células osteoprogenitoras,<sup>59-61</sup> porém poucos demonstram a aplicação dessas células na regeneração do tecido ósseo *in vivo*. Em trabalho recente, Jäger e colaboradores<sup>62</sup> descrevem 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. Segundo os autores, 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.

Assim como para as células osteoprogenitoras, as células-tronco mesenquimais isoladas de sangue de cordão umbilical possuem potencial de diferenciação em condrócitos maduros.<sup>59-61</sup> Choi e colaboradores<sup>63</sup> demonstraram que células mesenquimais de sangue de cordão umbilical, quando cultivadas sobre membrana de atelocolágeno e na presença de fatores adequados, adquirem o fenótipo de condrócitos maduros, com alta expressão de colágeno do tipo II e agregana. Os estudos da aplicação *in vivo* dessas células, no tratamento da cartilagem, ainda estão em andamento. O potencial de diferenciação em condrócitos da cartilagem elástica e do disco intervertebral ainda não foi descrito.

Além das células-tronco hematopoéticas e mesenquimais, o SCUP é fonte importante de progenitores endoteliais,<sup>64-65</sup> sugerindo sua aplicação em terapias angiogênicas dos tecidos músculo-esqueléticos, assim como os protocolos desenvolvidos com as células da medula óssea.<sup>66</sup> Diferentes estudos demonstram a aplicação de células mononucleares do SCUP no tratamento de lesões isquêmicas de músculo estriado esquelético.<sup>67</sup> De acordo com os autores, 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.

Resultados semelhantes são observados na injeção de células mononucleares do SCUP no tratamento do traumatismo raquimedular. Embora diferentes trabalhos descrevam o possível potencial de diferenciação em neurônios e células da glia por parte das células-tronco mesenquimais obtidas de sangue de cordão,<sup>68,69</sup> as células injetadas favorecem a regeneração do tecido nervoso em ratos através da liberação de fatores como VEGF e GDNF.<sup>70,71</sup> Relatos de casos em humanos descrevem a melhora clínica de pacientes que sofreram traumatismo raquimedular e que foram "tratados" com a injeção de células de sangue de cordão no local da lesão.

### **Sangue de cordão umbilical em Sistema Nervoso Central**

O Sistema Nervoso (SN) Central (cérebro) e periférico (medula espinhal e nervos) normal está em ininterrupta modificação, entre evolução e involução, 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. A diminuição do número de neurônios (substância cinzenta) no processo de envelhecimento normal é de apenas 10% entre 20 e 90 anos de idade. Os oligodendrócitos, derivados da glia, são responsáveis pela mielinização dos

axônios (substância branca), sem a qual a função do SN fica profundamente lentificada e prejudicada. A mielinização se inicia na vigésima sexta semana de gestação e se arrasta por décadas, havendo evidências atuais que deve ocorrer de forma mais reduzida por toda a extensão da vida. O total do comprimento das fibras mielinizadas mostra significativa redução, cerca de 45%, em função do envelhecimento normal, prejudicando o processo de atenção, sem o qual não haverá armazenamento em forma de memória.<sup>72,73</sup> Os oligodendrócitos são especialmente vulneráveis à isquemia e à exposição a citocinas inflamatórias e ao glutamato, neurotransmissor excitatório.

As agressões que atingem o SN podem ocorrer no período pré-natal, perinatal ou pós-natal. No período pré-natal e perinatal, durante o desenvolvimento do cérebro fetal, podem ocorrer doenças genéticas, como erros inatos do metabolismo, mencionados nesta publicação, ou agressões ambientais, como infecções (CMV, toxoplasmose, etc), acidente vascular cerebral e síndrome hipóxico-isquêmica.<sup>74</sup> Na vida pós-natal podem ocorrer traumatismo crânioencefálico,<sup>74</sup> trauma raquimedular,<sup>75</sup> meningoencefalites, epilepsias do lobo temporal,<sup>76</sup> acidente vascular cerebral isquêmico<sup>77-81</sup> ou hemorrágico,<sup>82</sup> doenças auto-imunes<sup>83</sup> (esclerose múltipla) e doenças degenerativas como a doença de Parkinson, a Coréia de Huntington,<sup>84</sup> a Esclerose Lateral Amiotrófica<sup>85</sup> e a doença de Alzheimer.

Em modelos pré-clínicos de isquemia cerebral, observou-se que a injúria cerebral estimula a migração de células do SCUP para o local da lesão e que a recuperação é dose-dependente: 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.<sup>86,87</sup> Apesar da administração das células de SCUP 24 horas após o AVC ter sido eficaz, o tempo ótimo para sua utilização após o acidente não foi estabelecido. Em trabalho recente, do mesmo grupo, os autores observaram potencial quimiotático para as células mononucleares do SCUP *in vitro*. Ademais, Sanberg e colaboradores<sup>88</sup> mostraram que as injeções de células de sangue de cordão umbilical diminuem a reação inflamatória após o AVC, aumentando, portanto, a neuroproteção.

A ação direta e indireta das células de sangue de cordão umbilical, no tratamento de AVC, sugere possível aplicação em outras doenças do sistema nervoso central e periférico.

### **Sangue de cordão umbilical e terapia gênica em doenças hematológicas**

O transplante de células-tronco hematopoéticas é utilizado com sucesso no tratamento para um grande número de doenças congênitas e adquiridas que envolvem o sistema linfo-hematopoético. As maiores limitações para aplicação do transplante de células-tronco no tratamento de doenças

genéticas são as complicações imunológicas secundárias ao transplante alogênico, incluindo a rejeição do enxerto, a doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) e a necessidade de imunossupressão. Essas limitações levam a considerar a terapia gênica utilizando o transplante de células-tronco autólogas, geneticamente corrigidas, para o tratamento dessas mesmas condições. O sucesso da terapia gênica com as células-tronco hematopoéticas depende da transferência efetiva do gene corrigido para células-tronco pluripotentes, da expressão gênica apropriada em células hematopoéticas e linfóides maduras e da ausência de efeitos adversos na função dessas células.<sup>89</sup>

As células-tronco de sangue de cordão umbilical possuem características especialmente importantes para a terapia gênica, pois, por serem mais jovem e com potencial proliferativo maior, a repopulação medular por essas células pode ser mais duradoura, oferecendo a expressão do novo gene por toda a vida do indivíduo. Existem evidências experimentais de que vetores retrovirais podem ser utilizados para transferência de genes para células-tronco de sangue de cordão.<sup>90,91</sup>

O primeiro ensaio clínico de sucesso em terapia gênica em doenças hematológicas foi relatado por Cavazza-Cavo e colaboradores,<sup>92</sup> em pacientes com SCID-X1 (imunodeficiência combinada grave) por deficiência do receptor de citocina  $\gamma c$ . No total, foram tratados dez pacientes com essa doença, em que foi alcançada reconstrução imunológica duradoura e resolução dos sintomas de infecção.<sup>93</sup> Até o momento, 28 de 31 pacientes portadores de imunodeficiência grave ligada ao X ou deficiência de adenosina deaminase (ADA) foram tratados com sucesso com terapia gênica em diferentes ensaios clínicos com demonstração de reconstrução imunológica funcional até nove anos após o tratamento. Em todos os casos, o gene de interesse (IL2G e ADA) foi transfectado para células progenitoras CD34+ de medula óssea utilizando-se retrovírus como vetores.<sup>94-97</sup> Apesar do sucesso terapêutico inicial, efeitos tóxicos graves foram observados cerca de dois anos após, em cinco pacientes com SCID-X1, em que a integração do retrovírus ao DNA levou à expressão do proto-oncogen LMO2 e ao desenvolvimento de leucemia de células T, que foi fatal em um paciente e revertido com quimioterapia nos demais.<sup>98-100</sup>

Existem poucos estudos clínicos utilizando células-tronco de sangue de cordão umbilical em terapia gênica. Em 1995, Kohn e colaboradores<sup>101</sup> relataram o tratamento de três neonatos com imunodeficiência grave ligada a deficiência de adenosina deaminase (ADA) com células-tronco autólogas derivadas de sangue de cordão umbilical. 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 de san-

gue de cordão umbilical podem ser modificadas geneticamente e transplantadas em neonatos para terapia gênica.<sup>102</sup>

Além das imunodeficiências, existem relatos de ensaios clínicos utilizando terapia gênica em outras doenças hematológicas como a doença granulomatosa crônica, na qual um defeito no metabolismo oxidativo dos fagócitos predis põe os pacientes a infecções recorrentes. A correção do defeito gênico levou à resolução das infecções de repetição em dois pacientes. Estudos sobre a transferência gênica em outras doenças como talassemia e doença falciforme mostraram a expressão do gene corrigido nos animais transplantados, com melhora dos níveis de hemoglobina e hematócrito, redução dos reticulócitos e normalização da morfologia do sangue periférico.<sup>100-102</sup>

### Sangue de cordão umbilical no tratamento de erros inatos do metabolismo

Os erros inatos do metabolismo constituem um grupo heterogêneo de doenças genéticas raras que causam deficiência em várias enzimas e resultam no acúmulo tissular de metabólitos.<sup>103</sup> 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.<sup>104</sup> Por mais de duas décadas, o transplante alogênico de células-tronco hematopoéticas mostrou-se benéfico no tratamento da síndrome de Hurler, adrenoleucodistrofia, leucodistrofia metacromática e doença de Krabbe.<sup>105</sup> A experiência com o uso de células-tronco provenientes de sangue de cordão umbilical nas doenças metabólicas vem aumentando nos últimos anos e os resultados são promissores.<sup>105-112</sup>

O Cord Blood Transplantation Study (COBLT) é um estudo multicêntrico cujo principal objetivo é avaliar o uso do sangue de cordão em transplantes alogênicos. Em uma coorte de 69 pacientes com doenças de depósito lisossômico e peroxissomal (mucopolissacaridose I, II e III e mucopolissacaridose II – 36 pacientes; adrenoleucodistrofia – 8; leucodistrofia metacromática – 6; doença de Krabbe – 16; doença de Tay-Sachs – 3. Os autores concluíram que o transplante de células de cordão umbilical deve ser considerado tratamento de primeira linha para pacientes jovens portadores de doenças de depósito lisossômico e peroxissomal.<sup>105</sup>

A terapia gênica pode ser considerada uma estratégia para o tratamento de doenças genéticas, mas é mais complexa do que inicialmente se imaginava. Avanços no *design* de vetores e na biologia das células-tronco serão necessários para viabilizar novos ensaios clínicos nesta área.

### Perspectivas futuras

As pesquisas recentes têm confirmado, cada vez mais, a importância do armazenamento do SCUP. A doação a bancos públicos, entretanto, possui alguns critérios que limitam

a captação de SCUP, com aplicação restrita deste ao sistema hematopoético. Por outro lado, o uso de células autólogas para doenças degenerativas, como acontece hoje nos protocolos clínicos de cardiologia, neurologia e doenças autoimunes (com CT de MO autóloga), e de terapia gênica, será facilitado a pacientes que já tenham o SCUP armazenado em bancos privados.

### Abstract

*Umbilical Cord Blood is a rich source of hematopoietic stem cells widely used as a substitute of bone marrow (BM) in transplants. Cells from umbilical cord blood present advantages over BM cells, mainly as they are younger and have higher proliferative rate. Besides hematopoietic stem cells, umbilical cord blood contains endothelial and mesenchymal progenitor cells, suggesting their possible application in cell therapy protocols for different tissues. In this paper, we discuss the importance of autologous umbilical cord blood storage and the research on stem cell transplantation for degenerative diseases. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2009;31(Supl. 1):36-44.*

**Key words:** Cell therapy; stem cell; mesenchymal cells; endothelial progenitors; gene therapy.

### Referências Bibliográficas

1. Broxmeyer HE, Srour EF, Hangoc G, Cooper S, Anderson SA, Bodine DM. High-efficiency recovery of functional hematopoietic progenitor and stem cells from human cord blood cryopreserved for 15 years. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(2):645-50.
2. Resolução RDC 153/04 - Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa, Brasil.
3. Erics A, Conget P, Minguell JJ. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br J Haematol*. 2000; 109 (1):235-42.
4. Kleen TO, Kadereit S, Fanning LR, Jaroscak J, Fu P, Meyerson HJ, et al. Recipient-specific tolerance after HLA-mismatched umbilical cord blood stem cell transplantation. *Transplantation*. 2005; 80(9):1316-22.
5. Ferreira E, Pasternak J, Bacal N, de Campos Guerra JC, Mitie Watanabe F. Autologous cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 1999;24(9):1041.
6. Fruchtman SM, Hurler A, Dracker R, Isola L, Goldman B, Schneider BL, et al. The successful treatment of severe aplastic anemia with autologous cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2004;10(11):741-2.
7. Rosenthal J, Bolotin E, Pawlowska A, et al. Hematopoietic stem cell transplantation with autologous cord blood units in two patients with severe aplastic anemia: time for reassessment? *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007;13:100a.
8. Hayani A, Lampeter E, Viswanatha D, Morgan D, Salvi SN. First report of autologous cord blood transplantation in the treatment of a child with leukemia. *Pediatrics*. 2007;119(1):e296-300.
9. Hildbrand P, Cirulli V, Prinsen RC, Smith KA, Torbett BE, Salomon DR, et al. The role of angiopoietins in the development of endothelial cells from cord blood CD34+ progenitors. *Blood*. 2004; 104(7):2010-9.
10. Salven P, Mustjoki S, Alitalo R, Alitalo K, Rafii S. VEGFR-3 and CD133 identify a population of CD34+ lymphatic/vascular endothelial precursor cells. *Blood*. 2003;101(1):168-72.

11. Botta R, Gao E, Stassi G, Bonci D, Pelosi E, Zwas D, *et al.* Heart infarct in NOD-SCID mice: therapeutic vasculogenesis by transplantation of human CD34+ cells and low dose CD34+KDR+ cells. *Faseb J.* 2004;18(12):1392-4.
12. Le Ricousse-Roussanne S, Barateau V, Contreres JO, Boval B, Kraus-Berthier L, Tobelem G. Ex vivo differentiated endothelial and smooth muscle cells from human cord blood progenitors home to the angiogenic tumor vasculature. *Cardiovasc Res.* 2004; 62 (1):176-84
13. Cho SW, Gwak SJ, Kang SW, Bhang SH, Won Song KW, Yang YS, *et al.* Enhancement of angiogenic efficacy of human cord blood cell transplantation. *Tissue Eng.* 2006;12(6):1651-61.
14. Tomonari A, Tojo A, Takahashi T, Iseki T, Ooi J, Takahashi S, *et al.* Resolution of Behçet's disease after HLA-mismatched unrelated cord blood transplantation for myelodysplastic syndrome. *Ann Hematol.* 2004;83(7):464-6.
15. De Ugarte DA, Alfonso Z, Zuk PA, Elbarbary A, Zhu M, Ashjian P, *et al.* Differential expression of stem cell mobilization-associated molecules on multi-lineage cells from adipose tissue and bone marrow. *Immunol Lett.* 2003;89(2-3):267-70.
16. Tondreau T, Meuleman N, Delforge A, Dejeneffe M, Leroy R, Massy M, *et al.* Mesenchymal stem cells derived from CD133-positive cells in mobilized peripheral blood and cord blood: proliferation, Oct4 expression, and plasticity. *Stem Cells.* 2005; 23(8):1105-12.
17. Tögel F, Hu Z, Weiss K, Isaac J, Lange C, Westenfelder C. Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanisms. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005;289(1):F31-42.
18. Kern S, Eichler H, Stoeve J, Klüter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells.* 2006;24 (5): 1294-301.
19. Ende N, Chen R, Reddi AS. Administration of human umbilical cord blood cells delays the onset of prostate cancer and increases the lifespan of the TRAMP mouse. *Cancer Lett.* 2006;231 (1): 123-8.
20. Alaez C, Loyola M, Murguía A, Flores H, Rodríguez A, Ovilla R, *et al.* Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT): an approach to autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2006;5(3):167-79.
21. Haller MJ, Viener HL, Wasserfall C, Brusko T, Atkinson MA, Schatz DA. Autologous umbilical cord blood infusion for type 1 diabetes. *Exp Hematol.* 2008;36(6):710-5.
22. Sanberg PR, Willing AE, Garbuzova-Davis S, Saporta S, Liu G, Sanberg CD, *et al.* Umbilical cord blood-derived stem cells and brain repair. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1049:67-83.
23. Newman MB, Willing AE, Manresa JJ, Davis-Sanberg C, Sanberg PR. Stroke-induced migration of human umbilical cord blood cells: time course and cytokines. *Stem Cells Dev.* 2005;14 (5): 576-86.
24. Abbattista MR, Schena FP. Stem cells and kidney diseases. *Minerva Med.* 2004;95(5):411-8.
25. Humes HD, Szczyпка MS. Advances in cell therapy for renal failure. *Transpl Immunol.* 2004;12(3-4):219-27.
26. Ma N, Stamm C, Kaminski A, Li W, Kleine HD, Müller-Hilke B, *et al.* Human cord blood cells induce angiogenesis following myocardial infarction in NOD/scid-mice. *Cardiovasc Res.* 2005;66(1):45-54.
27. Ende N, Chen R. Parkinson's disease mice and human umbilical cord blood. *J Med.* 2002;33(1-4):173-80.
28. Ende N, Chen R, Ende-Harris D. Human umbilical cord blood cells ameliorate Alzheimer's disease in transgenic mice. *J Med.* 2001;32(3-4):241-7.
29. Food and Drug Administration, HHS. Current good tissue practice for human cell, tissue, and cellular and tissue-based product establishments; inspection and enforcement. Final rule. *Fed Regist.* 2004;69(226):68611-88.
30. DA - Draft Guidance for Industry - Minimally manipulated, unrelated, allogeneic placental/umbilical cord blood intended for hematopoietic reconstitution in patients with hematological malignancies – U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research December 2006.
31. Commission of the European Communities. Directive 2004/23/EC of European Parliament and the Council of March 2004 on Setting standards of quality and safety for donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells. *OJ EC L102, 48-58. 7-4-2004*
32. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med.* 2006;3(11):e442.
33. NationalCenterfor Health Statistics, Centers for Disease Control and Prevention. Compressed Mortality File: Underlying Cause of Death, 1979 to 2004. Atlanta,Ga: Centers for Disease Control and Prevention. Disponivel em: <http://wonder.cdc.gov/mortSQL.html>. Accessed May 29, 2007.
34. Wollert KC, Drexler H. Clinical applications of stem cells for the heart. *Circ Res.* 2005;96(2):151-63.
35. Bartunek J, Vanderheyden M, Vandekerckhove B, Mansour S, De Bruyne B, De Bondt P, *et al.* Intracoronary injection of CD133-positive enriched bone marrow progenitor cells promotes cardiac recovery after recent myocardial infarction: feasibility and safety. *Circulation.* 2005;112(9 Suppl):1178-83.
36. Janssens S, Dubois C, Bogaert J, Theunissen K, Deroose C, Desmet W, *et al.* Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. *Lancet.* 2006;367(9505):113-21.
37. Kang HJ, Lee HY, Na SH, Chang SA, Park KW, Kim HK, *et al.* Differential effect of intracoronary infusion of mobilized peripheral blood stem cells by granulocyte colony-stimulating factor on left ventricular function and remodeling in patients with acute myocardial infarction versus old myocardial infarction: the MAGIC Cell-3-DES randomized, controlled trial. *Circulation.* 2006;114(1 Suppl):1145-51.
38. Lunde K, Solheim S, Aakhus S, Arnesen H, Abdelnoor M, Egeland T, *et al.* Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2006;355 (12):1199-209.
39. MMeluzín J, Mayer J, Groch L, Janousek S, Hornáček I, Hlinomaz O, *et al.* Autologous transplantation of mononuclear bone marrow cells in patients with acute myocardial infarction: the effect of the dose of transplanted cells on myocardial function. *Am Heart J.* 2006;152(5):975.e9-15.
40. Li ZQ, Zhang M, Jing YZ, Zhang WW, Liu Y, Cui LJ, *et al.* The clinical study of autologous peripheral blood stem cell transplantation by intracoronary infusion in patients with acute myocardial infarction (AMI). *Int J Cardiol.* 2007;115(1):52-6.
41. Menasché P. Cord blood and myocardial infarction: an uncertain wedding. *J Mol Cell Cardiol.* 2007;42(4):727-9.
42. Ma N, Ladilov Y, Kaminski A, Piechaczek C, Choi YH, Li W, *et al.* Umbilical cord blood cell transplantation for myocardial regeneration. *Transplant Proc.* 2006;38(3):771-3.
43. Bonanno G, Mariotti A, Procoli A, Corallo M, Rutella S, Pessina G, *et al.* Human cord blood CD133+ cells immunoselected by a clinical-grade apparatus differentiate *in vitro* into endothelial- and cardiomyocyte-like cells. *Transfusion.* 2007;47(2):280-9.

44. Kadivar M, Khatami S, Mortazavi Y, Shokrgozar MA, Taghikhani M, Soleimani M. In vitro cardiomyogenic potential of human umbilical vein-derived mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2006;340(2):639-47.
45. Prat-Vidal C, Roura S, Farré J, Gálvez C, Llach A, Molina CE, et al. Umbilical cord blood-derived stem cells spontaneously express cardiomyogenic traits. *Transplant Proc.* 2007;39(7):2434-7.
46. Henning RJ, Shariff M, Eadula U, Alvarado F, Vasko M, Sanberg PR, et al. Human cord blood mononuclear cells decrease cytokines and inflammatory cells in acute myocardial infarction. *Stem Cells Dev.* 2008;17(6):1207-19.
47. Cho SW, Kim IK, Bhang SH, Joung B, Kim YJ, Yoo KJ, et al. Combined therapy with human cord blood cell transplantation and basic fibroblast growth factor delivery for treatment of myocardial infarction. *Eur J Heart Fail.* 2007;9(10):974-85.
48. Hu CH, Wu GF, Wang XQ, Yang YH, Du ZM, He XH, et al. Transplanted human umbilical cord blood mononuclear cells improve left ventricular function through angiogenesis in myocardial infarction. *Chin Med J (Engl).* 2006;119(18):1499-506.
49. Botta R, Gao E, Stassi G, Bonci D, Pelosi E, Zwas D, et al. Heart infarct in NOD-SCID mice: therapeutic vasculogenesis by transplantation of human CD34+ cells and low dose CD34+KDR+ cells. *Faseb J.* 2004;18(12):1392-4.
50. Hirata Y, Sata M, Motomura N, Takanashi M, Suematsu Y, Ono M, et al. Human umbilical cord blood cells improve cardiac function after myocardial infarction. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005; 327(2):609-14.
51. Henning RJ, Abu-Ali H, Balis JU, Morgan MB, Willing AE, Sanberg PR. Human umbilical cord blood mononuclear cells for the treatment of acute myocardial infarction. *Cell Transplant.* 2004; 13(7-8):729-39.
52. Ghodsizad A, Niehaus M, Koegler G, et al. Transplanted human cord blood derived unrestricted somatic stem cells improve left-ventricular function and prevent left-ventricular dilation and scar formation after acute myocardial infarction. *Heart*, online publication, 2008.
53. Ichim TE, Solano F, Brenes R, Glenn E, Chang J, Chan K, et al. Placental mesenchymal and cord blood stem cell therapy for dilated cardiomyopathy. *Reprod Biomed Online.* 2008;16(6):898-905.
54. Friedenstein AJ, Piatetzky-Shapiro II, Petrakova KV. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J Embryol Exp Morphol.* 1966;16(3):381-90.
55. Owen M, Friedenstein AJ. Stromal stem cells: marrow-derived osteogenic precursors. *Ciba Found Symp.* 1988;136:42-60.
56. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res.* 1991;9(5):641-50.
57. Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays. *Cell Stem Cell.* 2008; 2(4):313-9.
58. Lee MW, Choi J, Yang MS, Moon YJ, Park JS, Kim HC, et al. Mesenchymal stem cells from cryopreserved human umbilical cord blood. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;320(1):273-8.
59. Kern S, Eichler H, Stoeve J, Klüter H, Bieback K. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells.* 2006;24(5):1294-301.
60. Kang XQ, Zang WJ, Bao LJ, Li DL, Xu XL, Yu XJ. Differentiating characterization of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells *in vitro*. *Cell Biol Int.* 2006;30(7):569-75.
61. Chang YJ, Tseng CP, Hsu LF, Hsieh TB, Hwang SM. Characterization of two populations of mesenchymal progenitor cells in umbilical cord blood. *Cell Biol Int.* 2006;30(6):495-9.
62. Jäger M, Degistirici O, Knipper A, Fischer J, Sager M, Krauspe R. Bone healing and migration of cord blood-derived stem cells into a critical size femoral defect after xenotransplantation. *J Bone Miner Res.* 2007;22(8):1224-33.
63. Choi YS, Im MW, Kim CS, Lee MH, Noh SE, Lim SM, et al. Chondrogenic differentiation of human umbilical cord blood-derived multilineage progenitor cells in atelocollagen. *Cytherapy.* 2008;10(2):165-73.
64. Duan HX, Cheng LM, Wang J, Hu LS, Lu GX. Angiogenic potential difference between two types of endothelial progenitor cells from human umbilical cord blood. *Cell Biol Int.* 2006;30(12):1018-27.
65. Nagano M, Yamashita T, Hamada H, Ohneda K, Kimura K, Nakagawa T, et al. Identification of functional endothelial progenitor cells suitable for the treatment of ischemic tissue using human umbilical cord blood. *Blood.* 2007;110(1):151-60.
66. Hernigou P, Poignard A, Manicom O, Mathieu G, Rouard H. The use of percutaneous autologous bone marrow transplantation in nonunion and avascular necrosis of bone. *J Bone Joint Surg Br.* 2005;87(7):896-902.
67. Koponen JK, Kekarainen T, E Heinonen S, Laitinen A, Nystedt J, Laine J, et al. Umbilical cord blood-derived progenitor cells enhance muscle regeneration in mouse hindlimb ischemia model. *Mol Ther.* 2007;15(12):2172-7.
68. Koike-Kiryama N, Adachi Y, Minamino K, Iwasaki M, Nakano K, Koike Y, et al. Human cord blood cells can differentiate into retinal nerve cells. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2007; 67 (4):359-65.
69. Song S, Sanchez-Ramos J. Preparation of neural progenitors from bone marrow and umbilical cord blood. *Methods Mol Biol.* 2008; 438:123-34.
70. Dasari VR, Spomar DG, Li L, Gujrati M, Rao JS, Dinh DH. Umbilical cord blood stem cell mediated downregulation of fas improves functional recovery of rats after spinal cord injury. *Neurochem Res.* 2008;33(1):134-49.
71. Kao CH, Chen SH, Chio CC, Lin MT. Human umbilical cord blood-derived CD34+ cells may attenuate spinal cord injury by stimulating vascular endothelial and neurotrophic factors. *Shock.* 2008; 29 (1):49-55.
72. Marner L, Nyengaard JR, Tang Y, Pakkenberg B. Marked loss of myelinated nerve fibers in the human brain with age. *J Comp Neurol.* 2003;462(2):144-52.
73. Pakkenberg B, Pelvig D, Marner L, Bundgaard MJ, Gundersen HJ, Nyengaard JR, et al. Aging and the human neocortex. *Exp Gerontol.* 2003;38(1-2):95-9.
74. Lu D, Sanberg PR, Mahmood A, Li Y, Wang L, Sanchez-Ramos J, et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces neurological deficit in the rat after traumatic brain injury. *Cell Transplant.* 2002;11(3):275-81.
75. Saporta S, Kim JJ, Willing AE, Fu ES, Davis CD, Sanberg PR. Human umbilical cord blood stem cells infusion in spinal cord injury: engraftment and beneficial influence on behavior. *J Hematother Stem Cell Res.* 2003;12(3):271-8.
76. Richardson RM, Barbaro NM, Alvarez-Buylla A, Baraban SC. Developing cell transplantation for temporal lobe epilepsy. *Neurosurg Focus.* 2008;24(3-4):E17.
77. Newman MB, Davis CD, Borlongan CV, Emerich D, Sanberg PR. Transplantation of human umbilical cord blood cells in the repair of CNS diseases. *Expert Opin Biol Ther.* 2004;4(2):121-30.
78. Borlongan CV, Hadman M, Sanberg CD, Sanberg PR. Central nervous system entry of peripherally injected umbilical cord blood cells is not required for neuroprotection in stroke. *Stroke.* 2004; 35 (10): 2385-9.
79. Vendrame M, Cassidy J, Newcomb J, Butler T, Pennypacker KR,



- Zigova T, *et al.* Infusion of human umbilical cord blood cells in a rat model of stroke dose-dependently rescues behavioral deficits and reduces infarct volume. *Stroke*. 2004;35(10):2390-5.
80. Abe K. Therapeutic potential of neurotrophic factors and neural stem cells against ischemic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2000;20(10):1393-408.
81. Chen J, Sanberg PR, Li Y, Wang L, Lu M, Willing AE, *et al.* Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats. *Stroke*. 2001;32(11):2682-8.
82. Nan Z, Grande A, Sanberg CD, Sanberg PR, Low WC. Infusion of human umbilical cord blood ameliorates neurologic deficits in rats with hemorrhagic brain injury. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1049:84-96.
83. Rosa SB, Voltarelli JC, Chies JA, Pranke P. The use of stem cells for the treatment of autoimmune diseases. *Braz J Med Biol Res*. 2007;40(12):1579-97.
84. Björklund A, Lindvall O. Cell replacement therapies for central nervous system disorders. *Nat Neurosci*. 2000;3(6):537-44.
85. Mazzini L, Fagioli F, Boccaletti R, Mareschi K, Oliveri G, Olivieri C, *et al.* Stem cell therapy in amyotrophic lateral sclerosis: a methodological approach in humans. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord*. 2003;4(3):158-61.
86. Newman MB, Willing AE, Manresa JJ, Davis-Sanberg C, Sanberg PR. Stroke-induced migration of human umbilical cord blood cells: time course and cytokines. *Stem Cells Dev*. 2005;14(5):576-86.
87. Vendrame M, Gemma C, de Mesquita D, Collier L, Bickford PC, Sanberg CD, *et al.* Anti-inflammatory effects of human cord blood cells in a rat model of stroke. *Stem Cells Dev*. 2005;14(5):595-604.
88. Sanberg PR, Willing AE, Garbuzova-Davis S, Saporta S, Liu G, Sanberg CD, *et al.* Umbilical cord blood-derived stem cells and brain repair. *Ann N Y Acad Sci*. 2005;1049:67-83.
89. Thomas ED, Blume KG, Forman SJ. Hematopoietic cell transplantation. Blackwell Science Inc., 3rd ed. Malden: USA; 2004.
90. Lu L, Xiao M, Clapp DW, Li ZH, Broxmeyer HE. High efficiency retroviral mediated gene transduction into single isolated immature and replatable CD34(3+) hematopoietic stem/progenitor cells from human umbilical cord blood. *J Exp Med*. 1993;178(6):2089-96.
91. Moritz T, Keller DC, Williams DA. Human cord blood cells as targets for gene transfer: potential use in genetic therapies of severe combined immunodeficiency disease. *J Exp Med*. 1993; 178(2):529-36.
92. Cavazzana-Calvo M, Hacein-Bey S, de Saint Basile G, Gross F, Yvon E, Nussbaum P, *et al.* Gene therapy of human severe combined immunodeficiency (SCID)-X1 disease. *Science*. 2000; 288 (5466): 669-72.
93. Sokolic R, Kesserwan C, Candotti F. Recent advances in gene therapy for severe congenital immunodeficiency diseases. *Curr Opin Hematol*. 2008;15(4):375-80.
94. Aiuti A, Slavin S, Aker M, Ficara F, Deola S, Mortellaro A, *et al.* Correction of ADA-SCID by stem cell gene therapy combined with nonmyeloablative conditioning. *Science*. 2002; 296 (5577): 2410-3.
95. Gaspar HB, Parsley KL, Howe S, King D, Gilmour KC, Sinclair J, *et al.* Gene therapy of X-linked severe combined immunodeficiency by use of a pseudotyped gammaretroviral vector. *Lancet*. 2004;364(9452):2181-7.
96. Deichmann A, Hacein-Bey-Abina S, Schmidt M, Garrigue A, Brugman MH, Hu J, *et al.* Vector integration is nonrandom and clustered and influences the fate of lymphopoiesis in SCID-X1 gene therapy. *J Clin Invest*. 2007;117(8):2225-32.
97. Aiuti A, Cassani B, Andolfi G, Mirolo M, Biasco L, Recchia A, *et al.* Multilineage hematopoietic reconstitution without clonal selection in ADA-SCID patients treated with stem cell gene therapy. *J Clin Invest*. 2007;117(8):2233-40.
98. Hacein-Bey-Abina S, Von Kalle C, Schmidt M, McCormack MP, Wulffraat N, Leboulch P, *et al.* LMO2-associated clonal T cell proliferation in two patients after gene therapy for SCID-X1. *Science*. 2003;302(5644):415-9.
99. Hacein-Bey-Abina S, von Kalle C, Schmidt M, Le Deist F, Wulffraat N, McIntyre E, *et al.* A serious adverse event after successful gene therapy for X-linked severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med*. 2003;348(3):255-6.
100. Fischer A, Cavazzana-Calvo M. Gene therapy of inherited diseases. *Lancet*. 2008;371(9629):2044-7.
101. Kohn DB, Weinberg KI, Nolta JA, Heiss LN, Lenarsky C, Crooks GM, *et al.* Engraftment of gene-modified umbilical cord blood cells in neonates with adenosine deaminase deficiency. *Nat Med*. 1995;1(10):1017-23.
102. Becker PS. The current status of gene therapy in autologous transplantation. *Acta Haematol*. 2005;114(4):188-97.
103. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, *et al.* In: The metabolic and molecular basis of inherited disease. McGraw-Hill, Inc. 1995. 4605p.
104. Krivit W, Peters C, Shapiro EG. 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*. 1999;12(2):167-76.
105. Martin PL, Carter SL, Kernan NA, Sahdev I, Wall D, Pietryga D, *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*. 2006;12(2):184-94.
106. Staba SL, Escolar ML, Poe M, Kim Y, Martin PL, Szabolcs P, *et al.* Cord-blood transplants from unrelated donors in patients with Hurler's syndrome. *N Engl J Med*. 2004;350(19):1960-9.
107. Escolar ML, Poe MD, Provenzale JM, Richards KC, Allison J, Wood S, *et al.* Transplantation of umbilical-cord blood in babies with infantile Krabbe's disease. *N Engl J Med*. 2005;352(20):2069-81.
108. Shah AJ, Kapoor N, Crooks GM, Parkman R, Weinberg KI, Wilson K, *et al.* Successful hematopoietic stem cell transplantation for Niemann-Pick disease type B. *Pediatrics*. 2005;116(4):1022-5.
109. Beam D, Poe MD, Provenzale JM, Szabolcs P, Martin PL, Prasad V, *et al.* Outcomes of unrelated umbilical cord blood transplantation for X-linked adrenoleukodystrophy. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007;13(6):665-74.
110. Dusing SC, Thorpe DE, Poe MD, Rosenberg AE, Mercer VS, Escolar ML. Gross motor development of children with hurler syndrome after umbilical cord blood transplantation. *Phys Ther*. 2007;87(11):1433-40.
111. Stein J, Garty BZ, Dror Y, Fenig E, Zeigler M, Yaniv I. Successful treatment of Wolman disease by unrelated umbilical cord blood transplantation. *Eur J Pediatr*. 2007;166(7):663-6.
112. Prasad VK, Mendizabal A, Parikh SH, *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* 2008 (online publication)
- Avaliação: O tema apresentado consta da pauta elaborada pelo editor, Professor Milton Artur Ruiz, e coeditores deste suplemento, Professores Sergio Paulo Bydlowski e Adriana Seber.
- Conflito de interesse: não declarado
- Recebido: 26/08/2008  
Aceito: 03/10/2008