

## Artigo de Revisão/Review Article

# O sangue do cordão umbilical em medicina regenerativa: uma revisão dos avanços científicos mais recentes

## Umbilical cord blood in regenerative medicine - a review of some recent scientific developments

Ana Cabeleira, Margarida Vieira, Teresa Matos,  
André Gomes, Dolores Rivera

*Crioestaminal*

### ABSTRACT

Stem cells are characterized by their self-renewal properties, high proliferative potential and capacity of differentiation into several types of cell lineages. One of the most promising sources of stem cells for cellular therapy is the umbilical cord blood, which is collected after birth and most often discarded as a biological waste. The easy collection, coupled with the fact that it is a non controversial stem cell source, had prompted the expansion of the clinical use of umbilical cord blood cells, during the last two decades. At present, the main indications are for hematologic and oncological diseases, such as leukemia, lymphomas, immunodeficiencies, among others. Although the present applications of cord blood cells are mainly in the haematological field, current research is showing that further areas may take advantage of this particular stem cell source, either in regenerative medicine, tissue engineering or gene therapy. This review is focused on recent developments of cord blood stem cell research, including basic research, pre-clinical animal studies, as well as ongoing patient trials. It describes some of the breakthroughs achieved in the field of cord blood stem cell research and how these exciting discoveries are being translated into the clinics.

**Keywords:** células estaminais; sangue do cordão umbilical; transplantes; medicina regenerativa

### CÉLULAS ESTAMINAIS E TERAPIA CELULAR

As células estaminais são células indiferenciadas, que possuem uma capacidade de auto-renovação ilimitada. Por esta razão conseguem, através de um processo de divisão simétrica, originar uma grande população de células idênticas. Contudo, sob determinadas condições, podem também diferenciar-se, originando diferentes tipos de células (por divisão assimétrica), as quais adquirem propriedades (expressão génica e fenotípica) características do tecido a que dão

origem, sofrendo uma redução da sua capacidade de proliferação.<sup>1-2</sup>

De acordo com a sua origem, as células estaminais podem ser divididas em dois grupos principais: células estaminais embrionárias e células estaminais adultas<sup>3</sup>. As células estaminais embrionárias provêm da massa celular interna do blastocisto (4<sup>o</sup>-6<sup>o</sup> dia do desenvolvimento embrionário) e são designadas por células pluripotentes, uma vez que podem dar origem a qualquer tipo de célula humana, com exceção dos tecidos extra-embrionários.<sup>1</sup> Apesar do seu

elevado potencial, existem obstáculos de natureza técnica e questões éticas e morais que limitam a utilização clínica das células estaminais embrionárias. Por seu lado, as células estaminais adultas têm sido isoladas dos mais diversos tecidos, como é o caso da medula óssea, do sangue periférico, da pele, do epitélio intestinal, do fígado, do cérebro, dos músculos, do tecido adiposo, do bolbo dentário e do pâncreas.<sup>1,4</sup> São células imaturas que, para além de contribuírem para a homeostase tecidual, também promovem a regeneração e a recuperação em situações de *stress* ou trauma.<sup>5</sup> Existem células estaminais em tecidos neo-natais, tais como o sangue do cordão umbilical, a matriz do mesmo ou a placenta.<sup>4-7</sup> Estas incluem-se no grupo das células adultas, uma vez que podem ser obtidas após o nascimento do indivíduo. No entanto, alguns autores defendem que devia ser atribuído um grupo próprio para este tipo de células, já que reúnem características intermédias, que não permitem classificá-las inequivocamente, nem como adultas, nem como embrionárias.<sup>5</sup>

De entre as fontes neo-natais, a melhor caracterizada é o sangue do cordão umbilical, a partir do qual é possível isolar várias populações de células estaminais, tais como:

- **Células estaminais hematopoiéticas**, caracterizadas pelo marcador CD34+, dão origem a todos os tipos de células da linhagem sanguínea; são as que se encontram em maior quantidade e, na actualidade, possuem importância clínica reconhecida;
- **Células progenitoras endoteliais**, as quais se diferenciam em células endoteliais, constituintes dos vasos sanguíneos;
- **Células estaminais mesenquimais**, com capacidade de diferenciação em diversas linhagens celulares, tais como células ósseas, cartilagem, células musculares e células do tecido adiposo; alguns trabalhos sugerem a possibilidade de diferenciar células neurais a partir de células estaminais mesenquimais;
- **Células USSC** (do inglês *unrestricted somatic stem cells*), também designadas como células estaminais somáticas não-restritas. Alguns autores consideram estas células pluripotentes como uma população de

células estaminais mesenquimais mais primitiva, uma vez que também se podem diferenciar, em células do tecido adiposo, células neurais, células ósseas, cartilagem e, ainda, em células sanguíneas e do músculo cardíaco;

- **Células estaminais *embryonic-like***, capazes de dar origem a células características das três linhas germinativas (ectoderme, mesoderme e endoderme), podendo-se destacar, respectivamente, as células neurais, sanguíneas e hepáticas.

Em termos de desenvolvimento, o sangue do cordão umbilical representa uma fonte de células estaminais mais próxima das células estaminais embrionárias/fetais, do que a maioria das células estaminais adultas, pelo que o seu potencial de diferenciação e proliferação é superior.<sup>4-5,8-9</sup> Considerada uma fonte muito promissora de células estaminais na área da medicina regenerativa, o sangue do cordão umbilical tem actualmente uma importância clínica reconhecida nos transplantes hematopoiéticos, para o tratamento de diversas doenças do foro hemato-oncológico.<sup>11,12</sup>

#### TRANSPLANTE DE SANGUE DO CORDÃO UMBILICAL PARA RECONSTITUIÇÃO HEMATOPOIÉTICA

O primeiro transplante de sangue do cordão umbilical ocorreu em 1988, numa criança com anemia de Fanconi. Foi utilizada uma amostra de sangue do cordão umbilical previamente recolhida e criopreservada, pertencente a um irmão que apresentava compatibilidade HLA (*Human Leukocyte Antigen*).<sup>13</sup> Na altura, ficou demonstrado que o sangue do cordão umbilical contém células estaminais hematopoiéticas em quantidade suficiente para a reconstituição hematopoiética e imunológica da medula do doente.

Decorridos vinte anos após o primeiro transplante com células do sangue do cordão umbilical, é cada vez maior o interesse nesta fonte não controversa de células estaminais, tendo sido já realizados mais de 20 000 transplantes em todo o mundo.<sup>14</sup> O sangue do cordão umbilical é hoje considerado uma fonte viável de células estaminais hematopoiéticas, com uma eficácia semelhante à das células provenientes da me-

dula óssea ou do sangue periférico, mas com algumas vantagens a destacar<sup>2,5,11-17</sup>:

- Em transplantes alogénicos não é necessário um nível tão elevado de compatibilidade para o sucesso do transplante (são aceites 1-3 discrepâncias HLA); também é menor o risco da doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH);
- Verifica-se uma maior acessibilidade e menor tempo de espera aquando do transplante;
- A colheita de sangue do cordão umbilical é não invasiva, sem qualquer risco para a mãe ou para o bebé;
- Existe menor risco de transmissão de infecções por vírus latentes (citomegalovírus e vírus Epstein-Barr);
- As amostras podem ser facilmente caracterizadas, criopreservadas e guardadas durante anos sem que ocorra perda de viabilidade;
- A criopreservação é feita em pequenos volumes, facilitando o transporte das amostras e diminuindo a exposição do paciente ao crioprotector DMSO (dimetil sulfóxido);
- Ao contrário das células adultas que vão acumulando lesões ao longo da vida (especialmente ao nível do DNA), as células do sangue do cordão umbilical não foram ainda sujeitas a essas agressões;
- As células são mais primitivas (em termos imunológicos e de desenvolvimento), apresentando um potencial proliferativo superior, taxas de divisão mais elevadas e telómeros maiores.

A maior limitação do transplante com células do sangue do cordão umbilical está relacionada com a quantidade de células CD34+ existentes na amostra que, nalguns casos, pode não ser suficiente para uma aplicação clínica com sucesso, e que tem sobretudo impacto na transplantação em adultos. De facto, o número de células transplantadas é um dos principais factores de recuperação e sobrevivência após o transplante.<sup>11,12</sup> Diversas estratégias (algumas em ensaio clínico) têm sido avaliadas para aumentar o número de células transplantadas e/ou facilitar a recuperação hematológica e imunológica do paciente, entre as quais se destacam<sup>14-17</sup>:

- A transplantação múltipla, que consiste na infusão de várias unidades de sangue de cordão umbilical;
- A expansão *ex vivo* das células CD34+. Esta pode ser conseguida através da aplicação de citocinas, que promovem a sobrevivência e proliferação celulares;
- A co-transplantação das células do sangue do cordão umbilical com:
  - Células hematopoiéticas do cordão expandidas *ex vivo*;
  - Células CD34+ haploidênticas provenientes, por exemplo, da medula óssea;
  - Células estaminais mesenquimais, que desempenham uma função de suporte, fornecendo um microambiente necessário para a reconstituição hematopoética;
- A aplicação directa das células na medula óssea *vs* as infusões endovenosas, evitando a perda de células que poderiam ficar retidas noutros órgãos (como os pulmões e o fígado).

Ultrapassada a limitação da dose celular, a taxa de sucesso do transplante de sangue do cordão umbilical é comparável ou mesmo superior à do transplante de medula óssea.<sup>14</sup>

### O SANGUE DO CORDÃO UMBILICAL EM MEDICINA REGENERATIVA

A medicina regenerativa é uma área da ciência que aplica princípios da biologia celular e de engenharia para a reparação e/ou substituição de tecidos ou órgãos que perderam as suas funções devido ao envelhecimento, a doença, a lesões ou defeitos congénitos. A terapia com células estaminais constitui um campo promissor e de rápido desenvolvimento da medicina regenerativa, podendo vir a ser muito útil no tratamento de doenças que, hoje em dia, ainda não têm tratamento eficaz. Têm sido publicados inúmeros trabalhos sobre a utilização de células estaminais do sangue do cordão umbilical em doenças cardiovasculares, doenças do sistema nervoso central, diabetes, entre muitas outras. Abaixo descrevem-se alguns dos avanços mais relevantes.

### Doenças cardiovasculares / vasculares

As doenças cardiovasculares são uma das principais causas de morte e incapacidade, sobretudo ao nível dos países mais desenvolvidos, constituindo um dos grandes desafios da medicina actual. Dado que a capacidade endógena de regeneração do músculo cardíaco é bastante limitada, têm sido testadas estratégias de terapia celular, recorrendo a células estaminais adultas retiradas do próprio paciente, por exemplo, da medula óssea ou do tecido adiposo, cujos efeitos estão a ser actualmente avaliados em ensaios clínicos, alguns em fase já muito avançada.<sup>18</sup>

As células estaminais do sangue do cordão umbilical são uma fonte interessante para terapia celular no contexto cardiovascular, dado o seu potencial cardiomiogénico.<sup>19</sup> Diversos trabalhos têm demonstrado que, em modelos animais, as células do sangue do cordão umbilical contribuem para a angiogénese, melhorando a função cardíaca. Um dos parâmetros que tem sido estudado é o modo de administração das células estaminais. A aplicação das células do sangue do cordão umbilical pode ser feita através da infusão directa na zona lesada (miocárdio), na circulação sanguínea ou nas coronárias. Geralmente, ocorre migração selectiva das células estaminais para o tecido danificado, observando-se um aumento da densidade de capilares no local, diminuição da área do enfarte e melhoria da função cardíaca, mesmo na ausência de miogénese.<sup>20</sup> Apesar dos mecanismos da regeneração cardíaca não serem ainda totalmente conhecidos, várias hipóteses têm sido levantadas: 1) há quem defenda que as células estaminais do sangue do cordão umbilical se diferenciam em cardiomiócitos, no entanto, por si só, esta diferenciação não seria suficiente para a recuperação da função cardíaca;<sup>21</sup> 2) outros estudos evidenciam que o principal mecanismo de recuperação resulta da produção de factores de crescimento angiogénicos, devido à hipóxia tecidual, observando-se tanto *in vivo* como *in vitro* a formação de novos vasos sanguíneos, bem como a migração de células estaminais endógenas do próprio coração; 3) um outro fenómeno, que também poderá contribuir para a recuperação cardíaca, é a capacidade de modelação da inflamação, que é conseguida através do controlo da expressão de moléculas pertencentes à cadeia da resposta inflamatória.<sup>22</sup>

Diversos trabalhos comprovaram que, quando aplicadas em modelos animais, as células estaminais do sangue do cordão umbilical contribuem também para a regressão dos efeitos de isquémia dos membros. Actualmente encontra-se em curso na Coreia do Norte um ensaio clínico aprovado pela FDA (NCT00518934), que tem por objectivo analisar a segurança e eficácia do transplante de células do sangue do cordão umbilical em doentes com arteriopatía isquémica. Foram publicados os resultados obtidos em pacientes que apresentam a doença de Buerger, verificando-se uma melhoria clínica significativa da circulação sanguínea periférica e da cicatrização de lesões epiteliais.<sup>23</sup>

### Sistema nervoso central

Ao longo da vida, o sistema nervoso central está sujeito a diferentes lesões/doenças tais como traumatismos crânio-encefálicos, acidentes vasculares cerebrais (AVC), lesões da medula espinal, esclerose lateral amiotrófica (ELA), doença de Parkinson, doença de Alzheimer e doença de Huntington, entre outras. No entanto, a sua capacidade de regeneração é bastante reduzida, pelo que a terapia com células estaminais exógenas poderá ter um papel importante na regeneração neural, contribuindo para a recuperação funcional dos pacientes.

Utilizando marcadores específicos, vários estudos mostraram ser possível diferenciar *in vitro* células do sangue do cordão umbilical em neurónios e oligodendrócitos funcionais.<sup>24</sup> Esta capacidade que as células do sangue do cordão umbilical possuem para se diferenciarem em vários tipos de células neurais parece ser um dos factores chave para a regeneração das lesões da medula espinal em ratinhos. Em modelos animais demonstrou-se que, após a infusão de células do sangue do cordão umbilical, as células estaminais transplantadas migram para a zona da lesão, permitindo a regeneração dos axónios e a recuperação da função motora.<sup>24</sup> Relativamente a estudos em pacientes foi publicado o caso de uma paciente paraplégica de 37 anos, que após transplante com células do sangue do cordão umbilical apresentou uma recuperação parcial da percepção sensorial e da mobilidade nos membros inferiores.<sup>25</sup>

Em modelos animais da doença de Parkinson, de Alzheimer e de Huntington, a infusão endovenosa de células estaminais do sangue do cordão umbilical parece retardar a progressão da doença e o aparecimento dos sintomas, com prolongamento da sobrevida.<sup>26-28</sup> Da mesma forma, a administração endovenosa de sangue do cordão umbilical em ratinhos com acidente vascular cerebral (AVC) induz angiogénese no tecido isquémico, contribuindo para a neurogénese, bem como para a redução da área afectada e consequente recuperação dos défices físicos e comportamentais associados à doença. Os efeitos observados parecem ser dependentes tanto da via de administração (intravenosa ou intraperitoneal), como da dose celular.<sup>29</sup> À semelhança do que se passa com o tecido cardíaco, ainda são desconhecidos os mecanismos moleculares responsáveis pela regeneração neural após o transplante de células, mas a redução da inflamação, a protecção contra a apoptose, a neovascularização, a migração de células progenitoras neurais endógenas e a reorganização da fibra nervosa parecem contribuir para tal.<sup>22,23</sup>

Os resultados promissores dos estudos em modelo animal, demonstrando existir uma acção, ainda que indirecta, das células do sangue do cordão umbilical na regeneração neural, forneceram a base experimental para o início de ensaios clínicos em humanos. Desde 2005 que, no departamento de pediatria da Duke University, nos EUA, se estão a realizar, em regime experimental, transplantes autólogos de sangue do cordão umbilical em crianças com paralisia cerebral e traumatismo crânio-encefálico. Ocasionalmente têm surgido notícias que relatam melhorias notáveis e progressos ao nível motor e de desenvolvimento, em algumas destas crianças. Aguarda-se a publicação dos resultados iniciais destes estudos em revistas médicas da especialidade. Na Duke University foi também iniciado em 2008 um ensaio clínico (NCT00593242) com o objectivo de analisar a segurança e eficácia da infusão de células do sangue do cordão umbilical autólogas em recém-nascidos com encefalopatia isquémica secundária à hipoxia.

## Diabetes

A diabetes tipo 1 é uma doença crónica resultante da destruição auto-imune das células  $\beta$ -pancreáticas, responsáveis pela produção de insulina. Ao contrário

da diabetes tipo 2, a diabetes tipo 1 ocorre geralmente na infância e adolescência.

A utilização de células estaminais do sangue do cordão umbilical em crianças com diabetes tipo 1 começou a ser avaliada em 2006, no âmbito de um ensaio clínico em curso nos EUA (NCT00305344), promovido pela Universidade da Florida, em conjunto com a Juvenile Diabetes Research Foundation. Este ensaio tem por objectivo estudar a eficácia e segurança desta terapia em crianças com diabetes tipo 1, avaliando a hipótese terapêutica de que as células do sangue do cordão umbilical poderão induzir uma tolerância imunológica, impedindo a destruição das células  $\beta$ -pancreáticas, com a consequente restauração da produção de insulina.

Os primeiros dados, apresentados no 67º Congresso da Associação Americana para a Diabetes,<sup>31,32</sup> demonstram um decréscimo nos níveis de HbA1c e menor dependência de insulina diária, sugerindo um efeito benéfico das infusões autólogas de sangue do cordão umbilical nos pacientes com diabetes tipo 1. Uma hipótese avançada pelos autores do estudo é que as células estaminais possuem propriedades imunomoduladoras, quer ao nível do decréscimo da resposta inflamatória, quer pela inibição e/ou supressão de células T efectoras ou de outras populações celulares envolvidas no processo auto-imune da doença. Os autores sugerem ainda que as células do sangue do cordão umbilical possam ter uma função de suporte daqueles tecidos ainda viáveis, favorecendo a proliferação das células pancreáticas endógenas.<sup>33</sup>

Na sequência destes resultados preliminares, os mesmo investigadores postulam que a suplementação com vitamina D e ácidos gordos ómega 3, para além da infusão de células estaminais de sangue do cordão umbilical, poderá trazer benefícios adicionais, o que os motivou a iniciar um outro ensaio (NCT00873925) que actualmente se encontra em fase II.

## Produção de componentes sanguíneos

A falta de disponibilidade de sangue para transfusões continua a ser um problema crónico nos hospitais, dado que a procura é superior à oferta existente nos bancos de sangue. Diversos investigadores têm procurado encontrar uma solução para este problema, atra-

vés da produção *in vitro* de componentes sanguíneos e sangue artificial. As células estaminais hematopoiéticas do sangue do cordão umbilical diferenciam-se nos vários tipos de células sanguíneas, e podem ser expandidas *in vitro* em grande quantidade. Em 2005 Giarratana e colaboradores descreveram um protocolo laboratorial em 3 passos que permitiu a expansão das células estaminais hematopoiéticas do sangue do cordão umbilical por um factor de 2 milhões, e a diferenciação completa destas células em glóbulos vermelhos.<sup>34</sup> A aplicação deste protocolo em larga escala poderá permitir que uma unidade de sangue de cordão umbilical origine cerca de 4-10 triliões de glóbulos vermelhos adultos, equivalentes a 2-4 unidades de concentrados de eritrócitos.

Diversos protocolos têm também sido estudados para otimizar a produção de plaquetas *in vitro* a partir de células do sangue do cordão umbilical. Os sistemas de produção em bioreactores (sistemas 3D) parecem ser mais eficientes, permitindo produzir uma maior quantidade de plaquetas e durante mais tempo, quando comparado com os sistemas tradicionais de cultura em placa. Estes bioreactores permitiram produzir até 1,2 milhões de plaquetas por dia, de um modo contínuo, durante mais de 32 dias. Apesar de, neste trabalho, a produção de plaquetas ficar ainda aquém da dose necessária para transfusão, os autores esperam que o estudo seja a base para o desenvolvimento de sistemas de produção rentáveis com aplicação na prática clínica.

As células estaminais do sangue do cordão umbilical podem constituir no futuro uma fonte alternativa de produtos sanguíneos, nomeadamente para o próprio paciente, beneficiando de bons rendimentos transfusionais e evitando o perigo de muitas reacções adversas.

## CONCLUSÕES

Tendo em conta a sua capacidade de renovação, as células estaminais constituem uma importante ferramenta para a recuperação funcional de tecidos e órgãos, possibilitando a melhoria e, até mesmo, a recuperação de várias doenças. À medida que as propriedades destas células vão sendo delineadas e compreendidas, vai sendo possível uma manipulação mais controlada das

mesmas, tanto *in vitro* como *in vivo*, o que permitirá, num futuro próximo, alargar a sua aplicação clínica, às mais variadas áreas.

O sangue do cordão umbilical é uma fonte importante de células estaminais hematopoiéticas, tendo-se constituído uma alternativa à medula óssea e ao sangue periférico nos transplantes para recuperação da hematopoiese. Diversos trabalhos têm demonstrado a existência de diferentes populações de células estaminais no sangue do cordão umbilical, com capacidade de diferenciação em linhas celulares características dos três folhetos germinativos embrionários, endoderme, mesoderme e ectoderme o que, juntamente com a sua fácil obtenção, as torna ideais para a regeneração de qualquer tecido do organismo. A importância destas células na reparação de tecido neural, cardíaco, hepático, entre outros, tem sido estudada em modelos animais, estando também em curso alguns ensaios clínicos para patologias do sistema nervoso central e diabetes tipo 1. É expectável que as células estaminais do sangue do cordão umbilical venham a ter um papel cada vez mais importante na medicina do futuro.

## REFERÊNCIAS

1. Fischbach GD, Fischbach RL. Stem cells: science, policy, and ethics. *J Clin Invest.* 2004; 114(10):1364-70.
2. Weiss ML, Troyer DL. Stem cells in the umbilical cord. *Stem Cell Rev.* 2006; 2(2):155-62.
3. Choumerianou DM, Dimitriou H, Kalmanti M. Stem cells: promises versus limitations. *Tissue Eng Part B Rev.* 2008; 14(1):53-60.
4. van de Ven C, Collins D, Bradley MB, Morris E, Cairo MS. The potential of umbilical cord blood multipotent stem cells for nonhematopoietic tissue and cell regeneration. *Exp Hematol.* 2007; 35(12):1753-65.
5. McGuckin CP, Forraz N. Potential for access to embryonic-like cells from human umbilical cord blood. *Cell Prolif.* 2008; 41 Suppl 131-40.
6. Bajada S, Mazakova I, Richardson JB, Ashammakhi N. Updates on stem cells and their applications in regenerative medicine. *J Tissue Eng Regen Med.* 2008; 2(4):169-83.
7. Troyer DL, Weiss ML. Wharton's jelly-derived cells are a primitive stromal cell population. *Stem Cells.* 2008; 26(3):591-9.
8. Harris DT, Badowski M, Ahmad N, Gaballa MA. The potential of cord blood stem cells for use in regenerative medicine. *Expert Opin Biol Ther.* 2007; 7(9):1311-22.
9. Broxmeyer HE. Biology of cord blood cells and future prospects for enhanced clinical benefit. *Cytotherapy.* 2005; 7(3):209-18.
10. Moise KJ. Umbilical cord stem cells. *Obstet Gynecol.* 2005; 106(6):1393-407.
11. Rocha V, Gluckman E. Clinical use of umbilical cord blood hematopoietic stem cells. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2006; 12(1 Suppl 1):34-41.

12. Brunstein CG, Setubal DC, Wagner JE. Expanding the role of umbilical cord blood transplantation. *Br J Haematol.* 2007; 137(1):20-35.
13. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med.* 1989;26;321(17):1174-8.
14. Gluckman E, Rocha V. Cord blood transplantation: state of the art. *Haematologica.* 2009;94(4):451-4
15. Gluckman E. Cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2006;12(8):808-12.
16. Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, Blazar BR, McGlave PB, Miller JS, et al. Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood.* 2005; 105(3):1343-7.
17. Haylock DN, Nilsson SK. Expansion of umbilical cord blood for clinical transplantation. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2007; 2(4):324-35.
18. Segers VFM, Lee RT. Stem-cell therapy for cardiac disease. *Nature* 2008;451(7181):937-42
19. Nishiyama N, Miyoshi S, Hida N, Uyama T, Okamoto K, Ikegami Y, Miyado K, Segawa K, Terai M, Sakamoto M, Ogawa S, Umezawa A. The significant cardiomyogenic potential of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in vitro *Stem Cells.* 2007; 25(8):2017-24
20. Ma N, Stamm C, Kaminski A, et al. Human cord blood cells induce angiogenesis following myocardial infarction in NOD/scid-mice. *Cardiovasc Res.* 2005; 66:45-54.
21. Ghodsizad A, Niehaus M, Koegler G, et al. Transplanted human cord blood derived unrestricted somatic stem cells improve left-ventricular function and prevent leftventricular dilation and scar formation after acute myocardial infarction. *Heart.* 2009;95(1): 27-35
22. Yu G, Borlongan CV, Stahl CE, Yu SJ, Bae E, Yang T, et al. Transplantation of human umbilical cord blood cells for the repair of myocardial infarction. *Med Sci Monit.* 2008;14(10):RA163-72.
23. Kim S, Han H, Chae G, Lee S, Bo S, Yoon J, et al. Successful Stem Cell Therapy Using Umbilical Cord Blood-Derived Multipotent Stem Cells for Buerger's Disease and Ischemic Limb Disease Animal Model. *Stem Cells.* 2006; 24(6):1620-1626.
24. Harris DT. Cord blood stem cells: a review of potential neurological applications. *Stem Cell Rev.* 2008; 4(4):269-74.
25. Kang K, Kim SW, Oh YH, Yu JW, Kim K, Park HK, et al. A 37-year-old spinal cordinjured female patient, transplanted of multipotent stem cells from human UC blood, with improved sensory perception and mobility, both functionally and morphologically: a case study. *Cytotherapy.* 2005; 7(4):368-73.
26. Ende N, Chen R. Human umbilical cord blood cells ameliorate Huntington's disease in transgenic mice. *J Med.* 2001; 32(3-4):231-40
27. Nikolic WV, Hou H, Town T, Zhu Y, Giunta B, Sanberg CD, Zeng J, Luo D, Ehrhart J, Mori T, Sanberg PR, Tan J. Peripherally administered human umbilical cord blood cells reduce parenchymal and vascular beta-amyloid deposits in Alzheimer mice. *Stem Cells Dev.* 2008; 17(3):423-39.
28. Ende N, Chen R. Parkinson's disease mice and human umbilical cord blood *J Med.* 2002;33(1-4):173-80
29. Peterson DA. Umbilical cord blood cells and brain stroke injury: bringing in fresh blood to address an old problem. *J Clin Invest.* 2004; 114(3):312-4.
30. Liu M, Han ZC. Mesenchymal stem cells: biology and clinical potential in type 1 diabetes therapy. *J Cell Mol Med.* 2008 ; 12(4):1155-68.
31. Haller MJ, Viener H, Brusko T et al. Insulin requirements, HbA1c, and stimulated Cpeptide following autologous umbilical cord blood transfusion in children with T1D. 67th American Diabetes Association Congress. 2007. Abstract nr 0313-OR
32. Viener H, Brusko T, Wasserfall C et al. Changes in regulatory T cells following autologous umbilical cord blood transfusion in children with type 1 diabetes. 67<sup>th</sup> American Diabetes Association Congress. 2007. Abstract nr 0314-OR
33. Haller MJ, Viener H, Wasserfall C, Brusko T, Atkinson MA, Schatz DA. Autologous umbilical cord blood infusion for type 1 diabetes. *Exp Hematol.* 2008; 36(6):710-5.
34. Giarratana MC, Kobari L, Lapillonne H, Chalmers D, Kiger L, Cynober T, Marden MC, Wajcman H, Douay L. Ex vivo generation of fully mature human red blood cells from hematopoietic stem cells. *Nat Biotechnol.* 2005; 23(1):69-74.
35. Sullenbarger B, Bahng JH, Gruner R, Kotov N, Lasky LC. Prolonged continuous in vitro human platelet production using three-dimensional scaffolds. *Exp Hematol.* 2008;37(1):101-10