

Ana Sofia Fabrício

Células Estaminais do Sangue do Cordão Umbilical - O Farmacêutica informa

Dissertação para obtenção ao grau de Mestre em Farmacologia Aplicada sob a orientação da Professora Doutora Cláudia Cavadas, e apresentada a Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro, 2012



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

ÍNDICE

Resumo	1
Abstract	2
Lista de abreviaturas	3
Objectivo.....	4
1º CAPÍTULO -Introdução	5
1.1. Definição de Células Estaminais.....	6
1.2.Classificação das Células estaminais quanto à plasticidade	6
1.3.Classificação das Células estaminais quanto à origem	7
2.Células Pluripotentes induzidas (iPs)	8
3. Células Estaminais Mesenquimatosas	10
4. Células Estaminais do sangue do Cordão umbilical	12
5.Transplantação de Células Estaminais	13
6.Utilizações Actuais das Células Estaminais do sangue do Cordão Umbilical	14
7.Ensaio pré-clínicos com células estaminais do sangue do cordão umbilical	17
7.1. Patologias Cardíacas	17
7.2. Doenças Neurológicas	17
7.3.Doenças auto-imunes	19
7.4.Diabetes Mellitus tipo I	19
7.5.Doenças Pulmonares	20
7.6.Doenças Renais	20
7.7 Produção de Componentes Sanguíneos	21

7.8. Outras aplicações das células estaminais	21
8. Criopreservação de células estaminais do sangue do cordão umbilical	21
8.1.História	21
8.2.O processo de criopreservação.....	22
8.2.1.Adesão ao serviço	23
8.2.2.Recolha de Amostras	23
8.2.3.Transporte	24
8.2.4.Processamento	24
8.2.5.Conservação da amostra	24
8.2.6.Descongelamento da amostra	26
9. Bancos de recolha	26
9.1 Bancos públicos e Bancos privados	27
9.2.Situação em Portugal	28
9.3. Situação no Mundo	33
10. Considerações da Comunidade Científica	36
11.O Farmacêutico Comunitário e a Informação Sobre as Células Estaminais do Sangue do Cordão Umbilical	38
2ºCAPÍTULO- Metodolgia	40
3ªCAPÍTULO-Resultados	41
4ºCAPÍTULO -Discussão	53
5º CAPÍTULO-Conclusão	63
Bibliografia	65
Anexos	70

ÍNDICE DE ILUSTRAÇÕES

Tabela 1- Comparação entre células estaminais embrionárias e células estaminais adultas. Vantagens/ Desvantagens do seu uso no processo de transplantação	9
Tabela 2- Vantagens e desvantagens da utilização terapêutica de células estaminais do sangue do cordão umbilical	13
Tabela3- Aplicações das células estaminais do sangue do cordão umbilical para transplantação autóloga e alogénica.....	16
Tabela 4- Bancos de criopreservação de células estaminais em Portugal	30
Tabela 5- Número de amostras armazenadas e transplantadas em cada banco público acreditados ou em processo de acreditação pela NETCORD	34
Figura 1- Processo de Reprogramação de iPS	10
Figura 2- Distribuição dos ensaios clínicos com células estaminais mesenquimatosas por doenças	11
Figura 3- Distribuição dos ensaios clínicos com CEM por fases Classificação das Células estaminais quanto à origem	11
Figura 4- Número de unidades de cordão umbilical armazenadas em bancos de cordão umbilical, no Mundo, por ano	35
Figura 5- Conjuntura mundial relativa à criopreservação de células estaminais umbilicais ..	36
3ºCapítulo	
Figura 1- Distribuição da idade das mulheres da amostra	41
Figura 2- Número de filhos das mulheres da amostra	42
Figura 3- Número de semanas de gestação das mulheres da amostra	42
Figura 4- Perfil profissional das mulheres da amostra	43
Figura 5- Área de residência das mulheres da amostra	43
Figura 6- Distribuição das respostas à pergunta” Sabe o que são as células estaminais do sangue do cordão umbilical?”	44

Figura 7- Distribuição das respostas à pergunta "Sabe o que são as células estaminais do Sangue do Cordão Umbilical?"	45
Figura 8- Distribuição das respostas à pergunta "Sabe se a amostra recolhida pode ser usada mais do que uma vez?"	45
Figura 9- Distribuição das respostas à pergunta "A colheita é dolorosa para a mãe ou para o bebé?"	46
Figura 10- Distribuição das respostas à pergunta "Sabe em que altura da gravidez tem de tomar a decisão da recolha? "	47
Figura 11- Distribuição das respostas à pergunta "Conhece alguma instituição ou empresa de recolha e armazenamento de células estaminais?"	47
Figura 12- Distribuição das respostas à pergunta "Sabe se as células estaminais podem ser utilizadas por outros familiares do dador?"	48
Figura 13- Distribuição das respostas à pergunta "Sabe quanto pode custar aos pais a recolha e preservação das células estaminais do bebé?"	48
Figura 14- Distribuição das respostas à pergunta "Sabe da existência de algum Banco Público em Portugal?"	49
Figura 15- Distribuição das respostas à pergunta "Sabe quais as diferenças principais entre Bancos Públicos e Privados?"	49
Figura 16- Distribuição das respostas à pergunta "Sabe se os laboratórios funcionam todos os dias da semana?"	50
Figura 17- Distribuição das respostas à pergunta "Já tomou alguma decisão em relação à recolha das células estaminais do seu filho?"	50
Figura 18- Distribuição das grávidas com uma decisão tomada em relação ao que fazer com as CESCU, por semanas de gestação.....	51
Figura 19- Distribuição das respostas à pergunta "Qual a decisão que tomou?"	51
Figura 20- Distribuição das respostas das inquiridas quando confrontadas com algumas patologias para os quais o tratamento com as CESCU já seria efectivo ou não.....	52

RESUMO

O sangue do cordão umbilical tem sido usado como fonte de células estaminais no tratamento de várias doenças, especialmente hemato-oncológicas. Desde o primeiro transplante realizado com estas células, nos anos oitenta, inúmeros transplantes têm sido efectuados, mostrando o sangue do cordão umbilical ser uma alternativa a considerar relativamente a outras fontes de células estaminais. Ensaio clínico com células estaminais do sangue do cordão umbilical mostram resultados promissores prevendo um alargamento da sua utilização a várias doenças, especialmente com carácter degenerativo. O facto do processo de criopreservação não alterar a viabilidade destas células permite que se mantenham armazenadas por longos períodos de tempo e apenas utilizadas quando necessário.

Com o conhecimento do potencial das células estaminais do sangue do cordão umbilical surgem em Portugal e no resto do Mundo bancos de recolha e criopreservação tanto públicos como privados.

Com este estudo avaliaram-se os conhecimentos de uma amostra de mulheres grávidas acerca de várias questões relacionadas com as células estaminais do sangue do cordão umbilical. Concluímos que ainda existem muitas dúvidas relativas a esta temática e uma percentagem grande da amostra opta por não preservar as células do sangue do cordão umbilical dos seus filhos.

Chave: Células estaminais; Sangue do Cordão Umbilical; Criopreservação

ABSTRACT

The umbilical cord blood has been used as a source of stem cells in the treatment of several diseases, especially haematologic malignancies. Since the first transplant performed with these cells in the 1980s, numerous transplants have been carried out, which demonstrates that the umbilical cord blood represents an alternative to other sources of stem cells. Clinical trials performed with these umbilical cord blood stem cells reveal promising results by foreseeing an expansion of its use to several diseases, particularly to degenerative disorders. Taking into account that the cryopreservation procedure doesn't change the feasibility of these cells, they can be stored for long periods of time and only used when needed.

By getting acquainted with the potential of the umbilical cord blood stem cells, public and private stem cells and cryopreservation banks emerge in Portugal and all around the World.

While completing this study, information regarding a number of pregnant women was analysed in what concerns several issues related to the umbilical cord blood stem cells. We have concluded there still are many doubts on this subject and a large percentage of these pregnant women chooses not to preserve the umbilical cord blood stem cells of their children. The ones that decide to preserve them do it mainly in the public bank.

Key Words: Stem cells; Umbilical Cord Blood; Cryopreservation

Lista de Abreviaturas:

AFS -Amniotic Fluid Stem

APCER - Associação Portuguesa de Certificação

ASST- Autoridade para Serviços de Sangue e Transplantação

CE - Células Estaminais

CEM - Células Estaminais Mesenquimatosas

CESCU - Células Estaminais do Sangue do Cordão Umbilical

CNPMA - Conselho Nacional para Procriação Medicamente Assistida

DMSO - Dimetilsulfóxido

EF I - European Federation of Immunogenetics

FACT- Foundation for the Accreditation of Cell Therapy

FDA - Food and Drug Administration

HLA- Human Leucocitary Antigen

HSC - Hematopoietic Stem Cell

ISCT- International Society for Cellular Therapy

JACIE - Joint Accreditation Committee Europe

LES - Lupus Eritematoso Sistémico

OPS - “Open Pulled Straw”

OBJECTIVO

O nascimento de um filho implica a tomada de bastantes decisões por parte dos pais. Uma delas é a da recolha ou não, das células estaminais do cordão umbilical aquando do parto e em que condições. É ao farmacêutico na farmácia comunitária que, muitas vezes, os pais recorrem para um esclarecimento profissional nesta área. Ao mesmo tempo que surgem diversos bancos de criopreservação surgem também diversas questões éticas daí decorrentes que ainda se encontram por esclarecer. Até há pouco tempo em Portugal, a criopreservação das células estaminais do sangue do cordão umbilical só era efectuada em bancos privados, com custos avultados para o utente. Actualmente existe também um banco público que permite o acesso de todos a este serviço. A amostra é doada e inserida nas bases de dados mundiais, para ser usada por um doente compatível. Assim, é importante perceber quais as principais dúvidas dos pais em relação a este tema e poder prestar-lhes uma informação útil e precisa para facilitar a tomada de decisão.

Esta dissertação tem como objectivo geral avaliar o conhecimento de futuras mães acerca das células estaminais do sangue do cordão umbilical, da sua recolha, criopreservação e usos actuais. Pretende-se perceber qual a decisão dessas mães relativamente à recolha e preservação das células estaminais do sangue do cordão umbilical dos seus filhos.

I° CAPÍTULO

Introdução

Nos últimos anos, os grandes avanços nas áreas da biologia molecular e da genética têm alterado o rumo da investigação científica. O conhecimento das células estaminais e das suas potenciais aplicações na prática clínica inauguram a era da Medicina Regenerativa. À data inúmeros recursos humanos e materiais nos laboratórios de investigação são usados em pesquisas com células estaminais. As capacidades de auto-regeneração e diferenciação das células estaminais conferem-lhe um potencial único na medicina regenerativa e terapêutica em doenças crónicas. A utilização e manipulação de células estaminais despertam uma série de discussões que invariavelmente incluem considerações de ordem económica, ética, moral, religiosa e legal. A utilização do sangue do cordão umbilical como fonte de células estaminais não embrionárias veio facilitar os estudos com estas células e mostrar as suas potenciais utilizações. Até à data, a aplicação das células estaminais do sangue do cordão umbilical na prática clínica é ainda limitada quase exclusivamente a doenças do foro hematológico mas alguns estudos têm revelado que poderão vir a ter uma utilização futura noutras áreas, como sejam as doenças degenerativas e as doenças auto-imunes.

1.1. Definição de células estaminais

O termo Estaminal deriva do latim *stamen, staminis* que significa tronco, ordem, filo, fio. [1]. As células estaminais têm duas características que as distinguem dos outros tipos de células. Em primeiro lugar a capacidade de se auto-dividirem, por vezes após longos períodos de inatividade; e a segunda característica é a capacidade de, em certas condições fisiológicas ou experimentalmente induzidas, diferenciarem-se em diversos tipos celulares e originarem células de tecidos específicos com funções especializadas [2,3,4].

1.2. Classificação de células estaminais quanto à plasticidade:

As células estaminais totipotentes são capazes de se diferenciar em qualquer tecido do organismo humano, incluindo tecidos placentários. Correspondem às células resultantes das primeiras divisões celulares após a fecundação, fazem parte da mórula, estando assim presentes antes da formação do blastocisto [4,5,16]. As CE totipotentes são consideradas de um ponto de vista biológico totalmente indiferenciadas, estágio que corresponde à máxima capacidade de diferenciação, porquanto podem dar origem às diferentes variedades de células que compõem um organismo vivo, bem como aos anexos embrionários que são necessários ao seu desenvolvimento intra-uterino [27].

As células estaminais pluripotentes conseguem diferenciar-se em quase todos os tecidos humanos, excepto placenta e anexos embrionários, e fazem parte do polo embrionário no blastocisto.

As células estaminais multipotentes são capazes de diferenciar-se em mais que um tecido, exemplo disso são as células hematopoiéticas, capazes de se diferenciar em plaquetas, glóbulos brancos e vermelhos. São parcialmente especializadas.

As células estaminais unipotentes são apenas capazes de se diferenciar num único tipo de células de determinado tecido, ou seja, o tecido a que pertencem, encontram-se nos diferentes tecidos humanos e a sua função é agir como um reservatório especializado dos diferentes tecidos para corrigir alguma lesão tecidual que ocorra. [4,5,6,7,16]. Quanto mais primitiva na linha de desenvolvimento embrionário é maior é o potencial de diferenciação da célula estaminal.

1.3. Classificação de células estaminais quanto à origem:

As Células Estaminais Embrionárias são retiradas do embrião e, obviamente, existem grandes questões éticas associadas à sua utilização. São as únicas que são totipotentes ou pluripotentes [8,9].

As Células Estaminais Adultas ou Somáticas são encontradas no corpo humano adulto em vários órgãos diferentes. São células multipotentes. As principais fontes de células estaminais somáticas são as seguintes:

Sangue do cordão umbilical – Caracteriza-se por ser uma fonte em células estaminais hematopoiéticas (“HSC - Hematopoietic Stem Cell”), em células estaminais multipotentes (MLPC - Multi-Lineage Progenitor Cell) e em células mesenquimatosas [8,10].

Medula Óssea Vermelha – É o local onde ocorre a hematopoiese no adulto. A medula óssea vermelha é uma fonte em células estaminais hematopoiéticas e mesenquimatosas [8,10].

Sangue periférico – As células estaminais do sangue periférico são recolhidos através de um método conhecido por aférese. Do sangue recolhido apenas se recolhem entre 5 a 20 % de células estaminais hematopoiéticas [8,10].

Líquido Amniótico – Estudos recentes detectaram que as células estaminais provenientes do líquido amniótico (AFS - Amniotic Fluid Stem) podem diferenciar-se em diversos tipos celulares [8,10].

Outras Órgãos – Nos vários tecidos de diversos órgãos do organismo humano foram células estaminais como por exemplo, nos folículos pilosos da derme, no tecido adiposo, no epitélio olfactivo ou ainda na polpa dentária. Os tecidos apresentam micro ambientes propícios para as células estaminais em que ocorre um equilíbrio entre auto-renovação e diferenciação celular [10].

Classicamente, as características que diferenciam uma célula estaminal embrionária de uma célula estaminal adulta são as seguintes [10]:

Potencial de Diferenciação – Enquanto as células estaminais embrionárias são pluripotentes e podem, em teoria, diferenciar-se em qualquer célula do corpo, as células estaminais somáticas possuem um potencial de diferenciação limitado ao tecido do qual se originam.

Cultura de células “in vitro” – Se, por um lado, as células estaminais embrionárias podem ser facilmente cultivadas “in vitro”, as células estaminais somáticas não apresentam um processo standard para a sua multiplicação. Esta questão impede a sua plena utilização e disseminação, por conta da elevada quantidade de células necessária à sua aplicação efectiva.

Rejeição do Transplante - Uma potencial vantagem ao emprego das células estaminais somáticas é representada pelo facto das células do paciente serem cultivadas “in vitro” e reintroduzidas no próprio indivíduo. Esta prática assegura que o sistema imunitário da pessoa não rejeite um potencial transplante e, desta forma, não utilize fármacos imunossupressores. As células estaminais embrionárias, como são originárias de fonte externa, podem provocar rejeição por parte do receptor.

Tumores e Instabilidade Genética – Nos últimos anos, foi detectado um elevado risco na formação de teratomas (tipo de tumor que pode ser de células germinativas derivado das células pluripotentes associado aos transplantes de células estaminais embrionárias [11]. Outro ponto preocupante refere-se às novas descobertas de alterações genéticas acumuladas nas células estaminais embrionárias cultivadas in vitro e que representam um forte obstáculo na prossecução de experiências clínicas que empreguem este tipo celular [12].

Tabela I- Comparação entre células estaminais embrionárias e células estaminais adultas. Vantagens/ Desvantagens do seu uso no processo de transplantação (adaptado de revisão em [14]).

	Vantagens	Desvantagens
Células Estaminais Embrionárias	<ul style="list-style-type: none"> • Totipotência • Facilidade de obtenção de um grande número de células embrionária <i>in vitro</i>; • Longevidade. 	<ul style="list-style-type: none"> • Possibilidade de rejeição; • Difícil controlo – necessitam de muita manipulação para originarem o tipo de célula pretendida; • Levantam questões éticas.
Células Estaminais Adultas	<ul style="list-style-type: none"> • Não há risco de rejeição porque o paciente recebe células com a sua própria informação genética; • Alguma disponibilidade (p. ex. células estaminais da pele, sanguíneas, etc.); • Mais fácil controlo – já requerem menor manipulação para originar determinada célula especializada; • Contornam possíveis questões éticas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Longevidade limitada – difícil manutenção em cultura por longos períodos de tempo; • Disponibilidade decresce com a idade; • Limitada plasticidade.

2. Células pluripotentes Induzidas (iPS)

Embora o potencial de diferenciação de grande parte das células estaminais adultas se restrinja a células maduras do seu próprio tecido, a reprogramação nuclear de células adultas em células estaminais pluripotentes demonstrou ser possível com metodologias recentes [9,13].

Um grande avanço surgiu da equipa de investigação orientada por Yamanaka, demonstrando que a adição exógena de apenas quatro factores de transcrição (Oct4, Sox2, c-Myc e Klf4), foi capaz de reprogramar fibroblastos de ratos a um estado embrionário, forçando-os a expressar genes responsáveis pela indiferenciação celular. Yamanaka e colaboradores escolheram estes quatro genes por estarem envolvidos na manutenção da pluripotência característica das células embrionárias, e consequente capacidade de gerar todo o tipo de células do organismo. As células IPS obtidas demonstraram ser semelhantes às células embrionárias não manipuladas, e demonstraram ter também uma grande capacidade de permanecer em cultura durante várias semanas [15].

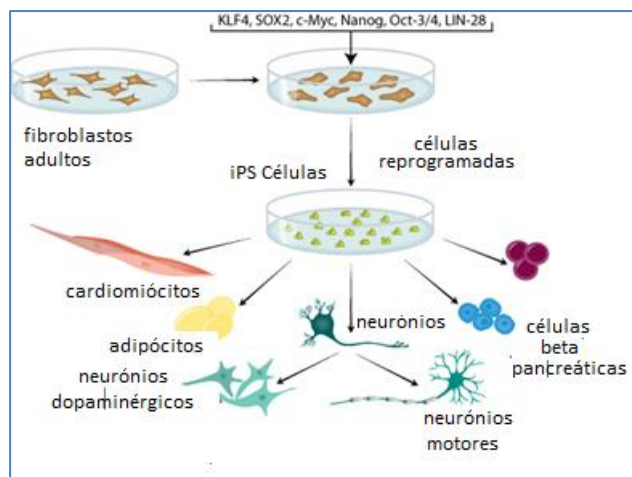


Figura 1- Processo de Reprogramação. Os quatro genes, Oct4, Sox2, c-Myc e Klf4, são introduzidos no núcleo de um fibroblasto, utilizando um retrovírus contendo os quatro genes a expressar. A célula obtida é cultivada e obtida uma linhagem celular com características de células embrionárias (adaptado de [65]).

3. Células Estaminais Mesenquimatosas

As Células Estaminais Mesenquimatosas (CEM) podem ser isoladas da matriz do cordão umbilical, da medula óssea, sangue, placenta, tecido adiposo, fluido e membrana amniótica, polpa dentária entre outros tecidos. Na presença de factores adequados, as células mesenquimatosas do cordão umbilical têm capacidade para se diferenciar em células com origem na ectoderme (neurónios e pele) ou endoderme (hepatócitos, fígado e intestino). De um ponto de vista experimental estas células podem ser identificadas através da sua morfologia (fibroblastos que crescem aderentes a uma superfície) e de marcadores característicos nas células mesenquimatosas presentes na sua membrana (proteínas CD105, CD73, CD90) [16] e ausência de marcadores específicos das células hematopoiéticas (CD34 e CD133) [17]. A incidência destas células nos tecidos é extremamente baixa sendo o tecido adiposo o que tem mostrado ter maior proporção de CEM [9]. Estudos recentes mostram que estas células regulam a hematopoiese e medeiam a resposta imune [16]. O desenvolvimento futuro de um método óptimo para manipular as CEM pode reforçar a sua importância na utilização em terapia celular. Para além das características enunciadas, as CEM isoladas a partir do sangue cordão umbilical não possuem um complexo de histocompatibilidade *major* completo encontrando-se ausentes os genes do subgrupo II e um gene do subgrupo I (HLA-DR). Esta característica tem uma enorme importância quando se trata da compatibilidade entre o dador e o receptor. Mesmo não havendo uma

compatibilidade entre o dador e o receptor, a probabilidade de ocorrência de doença do enxerto contra o hospedeiro é praticamente nula [16,17].

Na base de dados pública de ensaios clínicos (<http://clinicaltrials.gov>) à data estão registados 189 ensaios clínicos terminados e a decorrer usando células mesenquimatosas para várias aplicações terapêuticas, maioritariamente estudos de Fase I e Fase I e II. Os ensaios envolvem essencialmente doenças hematológicas malignas ou não malignas, diabetes, cancro, doenças do foro imunológico, doenças neuro-degenerativas entre outras (Fig. 3 e 4) [19].

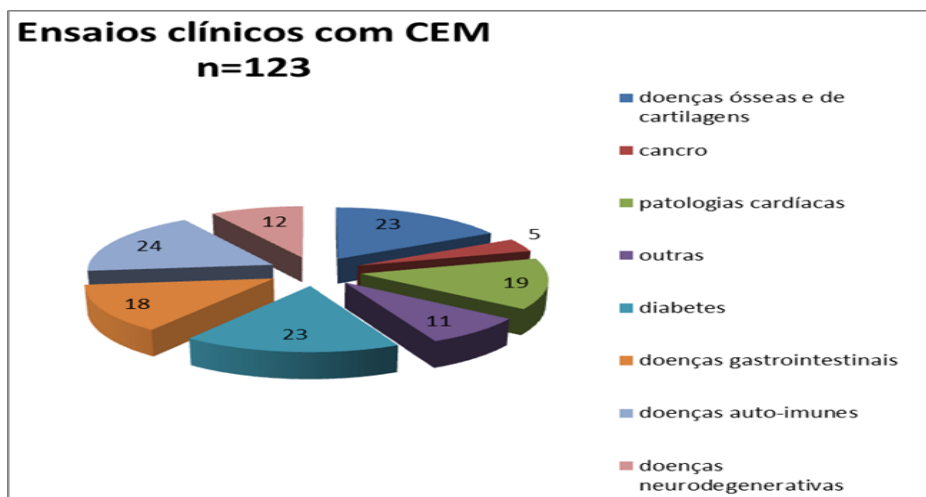


Figura 2 - Distribuição dos ensaios clínicos com células estaminais mesenquimatosas por doenças n=número de ensaios (adaptado de [20]).

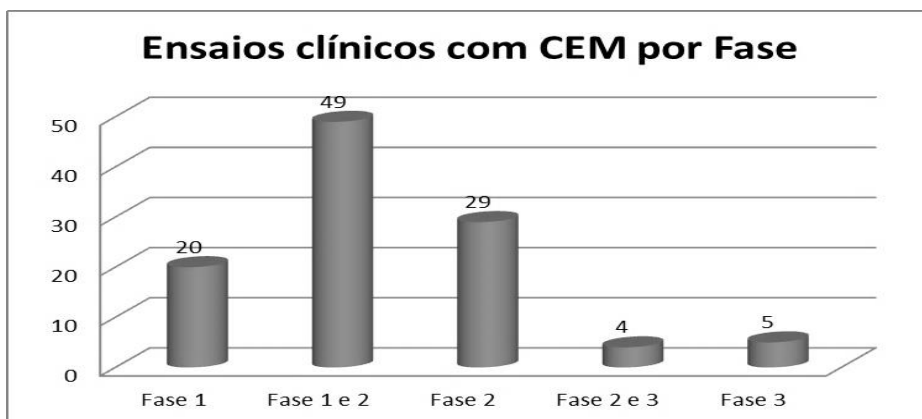


Figura 3 - Distribuição dos ensaios clínicos por fases (1,2,3) para um total de 107 ensaios (adaptado de [20]).

4. Células Estaminais do Sangue do Cordão Umbilical (CESCU)

O sangue do cordão umbilical (SCU) é actualmente reconhecido como uma fonte de células estaminais adultas utilizadas em transplantes [24]. As Células Estaminais extraídas do Sangue do Cordão Umbilical são células estaminais adultas e multipotentes, maioritariamente hematopoiéticas. Contudo, também já foi documentado o isolamento de células estaminais mesenquimatosas a partir do sangue do cordão umbilical, ainda que numa baixa proporção [9]. As células estaminais do sangue do cordão umbilical têm uma maior capacidade proliferativa, menor reactividade imunológica e menor risco de doença enxerto-hospedeiro do que as células estaminais adultas da medula óssea [4]. Ao contrário das células estaminais embrionárias, as CESCO não conseguem originar todos os tipos de células.

O uso das CESCO tem algumas vantagens comparativamente a outras fontes. A sua baixa imunogenicidade associada à sua imaturidade, a ausência de questões éticas associadas ao seu uso, a colheita não invasiva e indolor são as principais vantagens [18]. Armazenar sangue do cordão garante que as células estaminais podem ser disponibilizadas se forem necessárias para tratamento.

Existem também alguns obstáculos relacionados com os transplantes de CESCO. O principal é a baixa quantidade de células na amostra recolhida aquando do parto. Este factor pode provocar a falha do transplante e o conseqüente aumento da morbidade/mortalidade e redução da taxa de sobrevivência. Além disso, como as amostras criopreservadas têm baixo volume e concentração celular também limitam o uso a pacientes com mais de 60 Kg. Nestes casos seriam precisas duas amostras ao mesmo tempo. Apenas um terço dos transplantes com CESCO são realizados em adultos [21,24]. Como as CESCO são colhidas logo após o nascimento não se sabe da existência ou não de patologias hematológicas e/ou imunológicas que o dador possa desenvolver. Estas células podem nestes casos já conter essa informação [20,21]. Outra desvantagem do sangue do cordão umbilical enquanto fonte de células para transplantação prende-se com o facto da reconstituição hematológica e imunológica dos transplantados ser mais lenta, De facto, os doentes sujeitos a transplantes com CESCO ficam mais susceptíveis a infecções do que os transplantados com outras fontes de CE [21].

O uso de duas unidades de sangue do cordão umbilical, o transplante de células expandidas “ex vivo”, o transplante combinado de células estaminais do sangue do cordão umbilical e da medula óssea e a co-infusão de células estaminais mesenquimatosas estão a ser

estudados para contornar a pequena quantidade de células isoladas do sangue do cordão umbilical à nascença [22].

Tabela 2 - Vantagens e desvantagens da utilização terapêutica de células estaminais do sangue do cordão umbilical.

Vantagens	Desvantagens
Não requer alta compatibilidade HLA	Pequeno volume disponível
Prontamente disponível	Mais demorado para regenerar o tecido hematopoiético do receptor
Menos doença enxerto versus hospedeiro	Impossibilidade de usar outras células estaminais da mesma amostra de sangue do cordão umbilical caso o primeiro transplante não seja bem sucedido
Maior possibilidade de um transplante autólogos se o sangue do cordão umbilical tiver sido colhido ao nascimento	Resultados de longo prazo ainda pouco conhecidos
Menor risco de contaminação por vírus	Como a história genética das CESCU pode ser relativamente desconhecida à algum risco de transmissão de doenças genéticas.
Menos riscos e desconforto para o dador	
Possibilidade de haver número elevado de dadores, aumentando a diversidade genética das unidades armazenadas	

5. Transplantação de Células Estaminais

A compatibilidade HLA refere-se à existência de seis proteínas chamadas Antígenos Leucocitários Humanos (Human Leukocyte Antigens - HLA) que se expressam na superfície dos glóbulos brancos do sangue e noutros tecidos do corpo. Estes seis HLA, determinam a

compatibilidade dos tecidos entre um receptor e um dador. No Transplante Autólogo as células da própria pessoa são colhidas da medula óssea, do sangue, ou do sangue do cordão umbilical. As células são colhidas, criopreservadas e de novo utilizadas pela própria pessoa quando necessário. Nestes casos o risco de ocorrer uma reacção imune são muito baixos, ou seja não há, regra geral rejeição ao transplante. A grande desvantagem é que raramente uma doença que necessite de transplante celular é previsível e portanto muitas vezes na colheita já se encontram também células cancerígenas ou com as alterações provocadas pela patologia em causa. Nestes casos a amostra colhida pode ser tratada com fármacos anti-cancerígenos e é então posteriormente usada em benefício do próprio dador [22,23].

No caso do Transplante Alogénico as células estaminais provêm de um dador que não o próprio doente. Este dador normalmente é um familiar próximo, na maior parte das vezes irmão ou irmã mas pode também ser um dador desconhecido que seja “compatível “com o doente. Esta compatibilidade é conferida pela semelhança no ALH e pelo grupo sanguíneo (ABO) também similar [25].

6. Utilizações Actuais das Células Estaminais do Sangue do Cordão Umbilical

Até há poucos anos atrás não era reconhecida qualquer utilidade ao cordão umbilical após ocorrer o parto, este era considerado um desperdício do parto. O cordão umbilical contém duas artérias e uma veia, que são rodeadas por tecido conectivo mucóide denominado gel de Wharton's As células do sangue do cordão umbilical já foram usadas pela primeira vez em 1988 [18]. e são extraídas do sangue da veia do cordão umbilical logo após o nascimento. O cordão umbilical, enquanto tecido fresco apresenta-se também como uma promissora fonte de células endoteliais, células mesenquimatosas e células estaminais somáticas [18].

A possibilidade de usar as células estaminais do sangue do cordão umbilical para uso próprio são muito baixas, estima-se que seja numa percentagem que varia entre 0,04% e 0,0005% [27]. Os doentes que precisam de um transplante, precisam normalmente de células de um dador compatível e não das suas próprias células para tratar a sua patologia. O transplante autólogo de células estaminais do sangue do cordão umbilical não é efectivo no tratamento da maioria das doenças uma vez que as células estaminais já apresentam as mesmas alterações genéticas que o paciente demonstra [21].

Nos transplantes realizados com as células estaminais do sangue do cordão umbilical o antigénio leucocitário humano (ALH) não necessita de coincidir perfeitamente entre o dador e o receptor uma vez que estas células são menos susceptíveis de gerar uma reacção

imunológica do que as da medula óssea. A imaturidade destas células está associada à sua baixa imunogenicidade e portanto à baixa possibilidade de rejeição de um transplante [18].

Até ao momento não há protocolo de actuação em doenças que requerem regeneração tecidual (exemplos: enfarte do miocárdio, Doença de Alzheimer e de Parkinson) para os quais o transplante autólogo de células estaminais do sangue do cordão umbilical seja efectivo.

As células estaminais do sangue do cordão umbilical (CESCU) podem actualmente ser usadas para o tratamento de várias doenças malignas e não malignas especialmente doenças do foro hematológico [26]. Têm sido usadas com sucesso em transplantes autólogos e alogénicos em mais de 70 indicações terapêuticas durante os últimos 15 anos. Quatro grandes grupos de patologias podem ser tratados recorrendo à transplantação das CESCO: cancros, doenças hematológicas, doenças metabólicas e doenças auto-imunes. Exemplos de cancros tratados com estas células são os linfomas e as leucemias. Das doenças hematológicas, a anemia de Fanconi foi a primeira a ser tratada com as CESCO [21,26]. Das doenças metabólicas a adrenoleucodistrofia é uma das doenças que pode ser tratada recorrendo à transplantação com estas células. A quarta maior categoria de patologias tratáveis com estas células são as imunodeficiências como a doença de Dunsan ou deficiência na adenosina desaminase [21].

Ballen (2006) reportou estudos da utilização das CESCO em doenças auto-imunes como lúpus, esclerose múltipla, esclerose sistémica. Gunning (2007) reportou o uso destas células em doenças degenerativas como enfarte do miocárdio, derrame cerebral, diabetes, doenças hepáticas, doenças neuro-degenerativas contudo, os usos das células nestas patologias estão ainda numa fase puramente experimental, ainda longe da aplicação clínica [21].

Tabela 3- Aplicações das células estaminais do sangue do cordão umbilical para transplantação autóloga e aléica, adaptado de [34], fontes: [61,66].

Doenças oncológicas	Deficiências medulares	Hemoglobinopatias
Leucemia linfoblástica aguda (LLA)* Leucemia mielóide aguda (LMA) Leucemia mielóide crónica (LMC) Leucemia mielomonocítica Tumores sólidos (ex. neuroblastoma ou retinoblastoma)* Doença de Hodgkin Linfomas não-Hodgkin Anemia Refractária Mielofibrose Mastocitose sistémica Síndrome linfoproliferativo autoimune Histiocitose familiar Histiocitose das células de Langerhans Linfohistiocitose hemofagocítica Granulomatose linfomatosa Síndrome infantil da monossomia do cromossoma 7	Anemia aplástica Anemia aplástica adquirida* Anemia de Fanconi Anemia diseritropoiética congénita Anemia de Blackfan-Diamond Anemia sideroblástica congénita Aplasia eritróide pura Neutropenia cíclica Neutropenia autoimune (severa) Síndrome de Evans Hemoglobinúria paroxística nocturna Doença de Glanzmann (desordem plaquetária) Trombocitopénia amegacariocítica Síndrome de TAR (Trombocitopénia sem rádio) Trombocitopénia neonatal severa Dermatomiosite juvenil Xantogranuloma juvenil Pancitopenia Síndrome de Kostmanns Síndrome de Shwachman-Diamond	Beta talassémia major Beta talassémia intermédia Alfa talassémia intermédia (Doença da hemoglobina H) Alfa talassémia major (Hydrops fetalis) Anemia falciforme
		Doenças metabólicas
		Adrenoleucodistrofia Doença de Gunther Doença de Gaucher Síndrome de Hunter (MPS-II) Síndrome de Hurler (MPS-I) Síndrome de Hurler-Scheie Síndrome de Maroteaux-Lamy (MPS-VI) Síndrome de Sanfilippo (MPS-III) Síndrome de Hermansky-Pudlak Mucopolidose tipo II, III Alfa manosidose Síndrome de Neimann Pick Síndrome de Sandhoff Doença de Tay Sachs Doença de Krabbe Leucodistrofia metacromática Fucosidose (Doença da deficiência de fucosidose) GMI Gangliosidase Doença de Wolman
Imunodeficiências Imunodeficiência combinada severa (SCID), entre as quais - Síndrome de Omenn - SCID com deficiência de Adenosina Deaminase (ADA-SCID)* - SCID ligada ao cromossoma X Síndrome de Ataxia-telangiectasia Síndrome de DiGeorge Síndrome de Wiskott Aldrich Agamaglobulinemia ligada ao cromossoma X Doença granulomatosa crónica Deficiência IKK gama Hipogamaglobulinemia Síndrome linfoproliferativo ligado ao cromossoma X		

* Só nestas doenças a utilização do sangue do cordão umbilical foi feita em contexto autólogos.

7. Ensaios pré-clínicos com células estaminais do sangue do cordão umbilical

7.1 Patologias cardíacas

As patologias do foro cardíaco são responsáveis por uma larga percentagem de mortes na população mundial. Uma vez que os indivíduos mais afectados são adultos não existem ainda estudos com células estaminais do sangue do cordão umbilical dos próprios para tratar estas patologias [27]. Estão em curso dezenas de ensaios clínicos para testar a eficácia de terapias autólogas com células estaminais adultas, isoladas da medula óssea e do sangue do cordão umbilical em doenças cardíacas. As doenças cardiovasculares levam à morte dos cardiomiócitos por falta de oxigénio e nutrientes por insuficiente irrigação dos tecidos. Ocorrem sequencialmente vários processos destrutivos, de entre os quais formação de tecido fibroso, sobrecarga de fluxo sanguíneo, aumento de pressão cardíaca que podem levar à morte [18,20,28].

As células estaminais do sangue do cordão umbilical são uma fonte interessante para terapia celular no contexto cardiovascular, dado o seu potencial cardiomiogénico. Alguns trabalhos em modelos animais parecem demonstrar que as células do sangue do cordão umbilical contribuem para a angiogénese, melhorando a função cardíaca [18,20]. Tem sido também estudada qual a melhor via de administração: a infusão directa na zona lesada (miocárdio), na circulação sanguínea ou nas coronárias. AS CESCUs migram para a área da lesão cardíaca e reduzem o tamanho da lesão promovendo também um aumento da função cardíaca. “In vitro”, as células do cordão umbilical não hematopoiéticas diferenciam-se em células com características dos cardiomiócitos: expressam o gene (ANP), BNP, alfa-actina, cadeia leve e pesada de miosina [20]. Vários mecanismos têm sido propostos para explicar o aumento da função cardíaca. Além da diferenciação das células estaminais do sangue do cordão umbilical em cardiomiócitos, a recuperação pode resultar da produção de factores de crescimento angiogénicos, observando-se tanto “in vivo” como “in vitro” a formação de novos vasos sanguíneos. Também a capacidade de modulação da inflamação conseguida através do controlo da expressão de moléculas pertencentes à cadeia da resposta inflamatória pode contribuir para a melhoria da função cardíaca [18,20,28].

7.2. Doenças Neurológicas

São várias as doenças neurológicas para as quais as células estaminais são actualmente uma esperança no tratamento. Os traumatismos crânio-encefálicos, acidentes vasculares cerebrais (AVC), lesões da medula espinal, esclerose lateral amiotrófica (ELA), doença de

Parkinson e doença de Alzheimer são as que mais são estudadas pela prevalência que têm na população actual [28]. Mediante certas condições há evidências que as células estaminais do sangue do cordão umbilical conseguem diferenciar-se em células do sistema nervoso. Utilizando marcadores específicos, vários estudos mostraram ser possível diferenciar “in vitro” células do sangue do cordão umbilical em neurónios e oligodendrócitos [28].

A primeira evidência dos possíveis efeitos terapêuticos das CEM do sangue do cordão umbilical em patologias cerebrais chegou do Laboratório de Chopp [17]. Foi induzida isquémia a ratos através de oclusão da artéria cerebral. A administração intravenosa de CESCUs levou a melhorias comportamentais depois da ocorrência de um acidente vascular cerebral nos ratos [17].

Num estudo mais recentes examinaram-se os efeitos das CEM do sangue do cordão num modelo cerebral canino sofrendo de trombo-embolismo cerebral. A área cerebral de isquémica foi reduzido após a administração intra-arterial de CEM do sangue do cordão umbilical, As CEM do sangue do cordão umbilical parecem expressar factores neuro-protectores (factor de crescimento vascular endotelial) [17]. Estes resultados sugerem que as CESCUs mesenquimatosas podem ser usadas em ensaios clínicos para isquémia cerebral [18].

Apesar da melhoria funcional do cérebro após a transplantação com CESCUs os mecanismos envolvidos não são ainda claros. A administração intravenosa de CESCUs mostra levar a um aumento de vários factores de crescimento cerebrais. Alguns estudos em ratos sujeitos oclusão cerebral mostram que a transplantação com as CESCUs permite um ambiente favorável à neovascularização, angiogénese e regeneração neuronal [28].

A doença de Parkinson é uma doença neuro-degenerativa progressiva caracterizada por tremores intensos, instabilidade postural, rigidez muscular, movimentos voluntários lentificados. Há perda de neurónios dopaminérgicos que resulta na alteração da função motora [23]. Weiss et al demonstraram que ratos modelos afectados com doença de Parkinson teriam melhorias significativas devido ao aumento de produção de um factor dopaminérgico trófico (GDNF) [18]. 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. [29,31].

A utilização das CESCUs já se mostrou promissora no tratamento da paralisia cerebral, tanto em modelos animais como humanos [18]. Um tratamento com CESCUs foi usado, ainda que de forma experimental em mais de 50 crianças com paralisia cerebral. As observações preliminares foram encorajadoras. Nem todas as crianças apresentaram os mesmos benefícios, parecendo as crianças mais jovens apresentarem melhorias mais significativas. O mecanismo por detrás das melhorias apresentadas, e a optimização da terapêutica têm de ser mais aprofundada [18,31].

7.3. Doenças auto-imunes

O benefício do uso da transplantação com células estaminais do sangue do cordão umbilical em doenças auto – imunes que incluem esclerose múltipla, artrite reumatóide e lúpus eritematoso continua a ser amplamente estudado.

Chang et al estudaram a transplantação de CESCUs mesenquimatosas em murinos para avaliar os benefícios desta terapêutica no síndrome nefrótico, complicação do lúpus eritematoso sistémico. A transplantação resultou num atraso do desenvolvimento da proteinúria, melhoria na actividade renal e aumento do tempo de vida dos animais. Estes achados podem indicar que as CEM serão efectivas na inibição das citocinas pró-inflamatórias a nível renal, inibição dos linfócitos e promoção da regeneração do tecido renal [18].

Sun et al reportaram que a transplantação com CESCUs mesenquimatosas parece ser segura e efectiva no tratamento (pelo menos a curto prazo) de doentes com LES severo. O estudo foi feito com 16 doentes. Contudo mais estudos, com mais pacientes e por períodos de tempo longo são necessários para determinar se as CESCUs são uma alternativa válida para esta doença [18,20].

7.4. Diabetes Mellitus tipo I

A Diabetes tipo I é uma doença auto-imune na qual as células produtoras de insulina (Ilhéus de Langerhans) são destruídas pelo sistema imune do próprio doente. Estudos recentes apontam para a possibilidade de controlar e programar a diferenciação de células estaminais do sangue do cordão umbilical, para que estas se diferenciem em células produtoras de insulina [20].

Em 2006, num dos primeiros ensaios clínicos realizados em crianças promovido pela Universidade da Florida, em conjunto com a Juvenile Diabetes Research Foundation avaliou-se a eficácia e segurança da terapia com CESCUs em crianças com diabetes tipo I. Os

primeiros dados, apresentados no 67º Congresso da Associação Americana para a Diabetes, 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 I [31].

Um estudo com 20 crianças com diabetes tipo I das quais 7 receberam um transplante autólogo de células do sangue do cordão umbilical e as restantes apenas receberam um tratamento normal com insulina, verificou-se que as crianças sujeitas ao transplante conseguiam melhores valores de glicémia e aumento das células T reguladoras da resposta auto-imune [29]. As células do sangue do cordão umbilical diferenciam-se “in vitro” em ilhéus funcionais, por mecanismos que estão ainda por esclarecer. Foi recentemente publicado um artigo que reforça que as células mesenquimatosas do sangue do cordão umbilical humano se podem diferenciar, “in vitro”, em ilhéus funcionais [31].

7.5. Doenças pulmonares

As doenças pulmonares traduzem-se na perda de capacidade respiratória resultante da perda de tecido pulmonar provocada pela inflamação e fibrose.

Num estudo com ratos recém-nascidos demonstrou-se que a administração intra-traqueal ou intra-peritoneal de CESCUs pode atenuar a hiperoxia pulmonar induzida. O efeito protector está associado à modulação da resposta inflamatória pulmonar e subsequente fibrose [18]. A hiperoxia pulmonar promove um aumento de morte celular, aumento da actividade da mieloperoxidase e uma anormal formação de alvéolos. Estes fenómenos diminuíram significativamente nos ratos administrados com CESCUs. Estes resultados mostram que poderá ser possível o desenvolvimento de uma terapêutica com CESCUs para doenças com hiperoxia pulmonar como a displasia Bronco-pulmonar [18].

7.6. Doenças renais

A aplicação das CESCUs mesenquimatosas não tem sido reportada em patologias renais, contudo um estudo recente avaliou a transplantação com estas células em ratos com insuficiência renal. Os ratos transplantados apresentavam um decréscimo dos níveis de creatinina e ureia comparados com os ratos do grupo controlo. Não é óbvia a transdiferenciação das CESCUs em células do tecido renal [18].

Num estudo recente com camundongos apresentando lesões renais e tubulares a administração de CESCUs mesenquimatosas mostrou melhorar a sua condição e aumentar a

sobrevivência. Esta melhoria pode estar relacionada com a redução da apoptose e com o aumento da proliferação celular decorrente do aumento da síntese de factores de crescimento por parte das células estaminais [18].

7.7. Produção de componentes sanguíneos

A falta de sangue para transfusões no meio hospitalar continua a ser um problema crónico. A procura é sempre superior à oferta existente nos bancos de sangue. Várias investigações decorrem no sentido de sintetizar componentes sanguíneos através das células estaminais hematopoiéticas do sangue do cordão umbilical. Estas células diferenciam-se em células sanguíneas e o objectivo é arranjar protocolos que permitam a sua expansão em larga escala.

Sistemas de produção em bio-reactores apresentados em 2005 por Giarratana e colaboradores parecem ser mais eficientes comparativamente às tradicionais culturas em placa. Permitem produzir uma maior quantidade de plaquetas e durante mais tempo. Apesar da 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 [31].

As células estaminais do sangue do cordão umbilical podem ser a base de uma alternativa à obtenção de produtos sanguíneos, tanto para benefício do próprio doente como para as reservas hospitalares [31].

7.8. Outras aplicações das células estaminais

Além da medicina regenerativa e da engenharia tecidual as células estaminais desempenham também um importante papel noutras áreas da ciência.

Na avaliação de novas moléculas em várias áreas da Farmacologia (identificação de novos fármacos, doses, potencial terapêutico, toxicidade) podem ser usadas em Modelos.

No estudo da Biologia básica do desenvolvimento para contribuição do melhor conhecimento da fisiologia celular e do desenvolvimento embrionário.

8. Criopreservação de Células Estaminais do Sangue do Cordão Umbilical

8.1. História

Desde 1988 que o sangue do cordão umbilical tem sido usado como fonte de células hematopoiéticas para transplantação alogénica. O primeiro transplante foi realizado num rapaz com 5 anos de idade com anemia de Fanconi. A sua mãe estava grávida de uma menina

que se sabia antes do nascimento ser HLA compatível e não apresentar o mesmo problema genético. O cordão umbilical da irmã foi colhido e criopreservado para transplantar no menino. Um ano mais tarde, 98% do sistema linfático deste doente era originário das células transplantadas. Foi um caso de sucesso, o rapaz 22 anos passados ainda se encontrava vivo com um padrão imunológico e hematológico normal [32].

Em 1991, o primeiro banco público foi estabelecido no New York Blood Center e em 1993 aconteceu o primeiro transplante alogénico numa criança de 4 anos com leucemia. Depois disso mais de 100 bancos públicos colheram mais de 500 000 cordões umbilicais de forma altruísta, de dadores anónimos e de forma gratuita que já resultaram em 25 000 transplantes autólogos de dadores não relacionados em todo o Mundo [32,33]. O uso do sangue do cordão umbilical tornou-se importante devido ao aumento da necessidade de dadores para alotransplante que se verificou nos últimos 40 anos.

Durante estes anos, cerca de dois terços dos doentes não teve dador (familiar) compatível, daí a necessidade de recorrer a dadores não familiares. O início da actividade dos bancos públicos de sangue do cordão umbilical nos Estados Unidos e na Europa, tornou possível a realização dos primeiros transplantes de sangue do cordão umbilical entre dadores não aparentados em 1993 e 1994. Desde esses primeiros transplantes tornou-se claro que o sangue do cordão umbilical é uma fonte segura e efectiva de células estaminais para transplantação. Em 2008, segundo dados do National Marrow Donor Program dos Estados Unidos havia já mais de 260 mil unidades de sangue do cordão umbilical armazenadas em vários Mundiais. Apesar da Medula óssea ser ainda a fonte mais prevalente de CE para transplantação, o sangue do cordão umbilical tem ganho uma importância crescente nos últimos anos [21,32,33].

8.2. O Processo de Criopreservação

As células estaminais do sangue do cordão umbilical só podem ser obtidas uma vez na vida de cada indivíduo, na altura do parto. A criopreservação das células do sangue do cordão umbilical é o passo crucial para a sua utilização futura. Este método deve preservar o máximo de células e mantê-las viáveis. Há regulamentos que visam uniformizar os procedimentos de recolha e criopreservação a fim de permitir que as amostras recolhidas sejam devidamente registadas e conservadas. Actualmente e por já terem sido documentados potenciais diferenças entre as células estaminais do sangue do cordão

umbilical e do tecido do cordão umbilical, existem bancos que optam por recolher e criopreservar não só o sangue do cordão umbilical mas o tecido do próprio cordão [34].

8.2. Adesão ao Serviço

Os progenitores que optarem por aderir a este serviço têm de escolher o Banco que querem que o faça e contactá-lo antes das 34 semanas de gestação. Nesta altura é-lhes fornecida toda a documentação e material necessário para efectuar a recolha. Actualmente o contacto com os Bancos pode ser feito via *internet*, telefone, presencialmente e no caso de algumas empresas nas próprias Farmácias Comunitárias. A mãe tem de responder por escrito a um questionário sobre hábitos de vida e história familiar de doenças e assinar um consentimento informado da tomada de consciência dos procedimentos que irão decorrer na recolha e preservação das células estaminais e qual o destino das células do seu filho. A grávida tem igualmente de apresentar um comprovativo da realização das análises sanguíneas de citomegalovírus (IgM e IgG), Hepatite B (HBs Ag) e Hepatite C (HCV Av), HIV I, HIV II e Sífilis [34,35,36].

8.2.2. Recolha de amostras

A recolha da amostra do sangue e/ou tecido do cordão umbilical é efectuada mediante a aquisição de um *Kit* por parte dos progenitores. Este *kit* contém as instruções da recolha para os profissionais de saúde, documentação e informações aos pais e a caixa selada com o material esterilizado a utilizar na recolha. O *kit* de recolha é levado pelos progenitores no dia do parto e é entregue aos profissionais de saúde que irão realizar o parto.

Existem descritas duas técnicas distintas de recolha da amostra. Numa delas a recolha é feita quando a placenta ainda está dentro do útero e é efectuada pelos obstetras na sala de partos. Na outra técnica a recolha é feita pelos profissionais do centro de criopreservação já após a expulsão da placenta e não necessariamente na sala de partos. Alguns autores estudaram o impacto do tipo de recolha na viabilidade celular [42]. A maioria dos autores concluiu que a recolha in útero permite obter um maior volume de células viáveis (este parâmetro é avaliado pela contagem de células CD34) e minimizar a contaminação [42].

Actualmente o que se preconiza é que a recolha seja feita quando a placenta ainda está dentro do útero, no ambiente estéril da sala de partos, imediatamente após o nascimento (parto normal ou cesariana) e antes da expulsão da placenta. O cordão umbilical é cortado entre dois clamps, é introduzida a agulha na veia do cordão umbilical o mais próximo

possível do *clamp* e o sangue é recolhido. Deve ser colhida a maior quantidade possível de sangue (preferencialmente entre 60 a 150 ml). O sangue é colhido para um saco com anti-coagulante (CPD) (citrato-fostato-dextrose) e é acondicionado no dispositivo de armazenamento da instituição escolhida para realizar a criopreservação. O sangue é mantido à temperatura ambiente até ser transportado para a empresa de criopreservação [34,35,36].

8.2.3. Transporte

O transporte da amostra para o laboratório de processamento e criopreservação do Banco é feito numa caixa isotérmica, e até 48 horas após a recolha. Se estas condições forem cumpridas a amostra não perde a sua viabilidade [34,35,36].

8.2.4. Processamento

Ao chegar ao laboratório a amostra é registada e é-lhe atribuído um número interno. A este processo segue-se um rigoroso controlo de qualidade. É avaliado o volume da amostra, a sua viabilidade (contagem de células vivas), é feita a contagem do número de células estaminais da linha hematopoiética (CD34+) e células mononucleadas com o método do Azul Triptano ou com iodeto de propídeo [26]. Seguidamente é efectuada a separação das células estaminais das outras células sanguíneas (plaquetas e glóbulos vermelhos) através da centrifugação porque estas apresentam diferentes densidades moleculares. Posteriormente à centrifugação e isolamento das células estaminais. É feita uma nova contagem das células CD34+ e mononucleadas assegurando que estas estão em número suficiente para assegurar a sua possível utilização. São necessárias aproximadamente 15 milhões de células mononucleadas por Kg de peso; se a amostra não cumprir os requisitos os pais são informados e o processo de armazenamento não é efectuado [34,35,36].

8.2.5. Conservação da amostra

Não existe apenas um método de criopreservação. Existem variações nas técnicas dos diferentes centros de criopreservação. Existem factores que podem ser críticos neste processo e que têm vindo a ser estudados e melhorados, como sejam, a temperatura de congelação bem como os intervalos de tempo em que é feita, os crioprotectores e a sua concentração em uso, temperatura de descongelamento e concentração da amostra [43,44,45].

Na criopreservação convencional, a generalidade deste procedimento envolve um arrefecimento com azoto líquido na presença de crioprotectores. O crioprotector visa

proteger a célula das variações de temperatura, evitando a formação de cristais intracelulares e de danos osmóticos. Além disso, devem ter elevada capacidade de penetração nas membranas biológicas, baixo peso molecular e baixa toxicidade. O crioprotector mais utilizado é o Dimetilsulfóxido (DMSO), é um crioprotector intracelular e é usado a na concentração de 10% combinado com soluções salinas e soro de albumina. O DMSO apresenta toxicidade para as células e para os tecidos, dependendo da concentração e da temperatura em que é usado [43,44,45] Existem novos crioprotectores, alguns extracelulares, que associados ao DMSO permitem a diminuição da sua concentração não alterando a viabilidade do processo e eliminando a toxicidade que lhe está inerente. Exemplo disso é o uso de soluções contendo Etilenoglicol e 1,2-propilenoglicol como protectores e álcool polivinílico como aditivo [46]. Existem ainda novas soluções de congelamento (Cryosor, Biolife Solutions, Inc) que mimetizam a composição intracelular iónica e que permitem reduzir a concentração de DMSO (para 3,5% ao 7%) usado no processo de criopreservação [47].

A amostra é arrefecida a -80°C através de refrigeradores mecânicos e é depois transferida para contentores com azoto líquido ou gasoso a temperaturas de -196° ou -156° respectivamente onde se mantêm durante anos. A manutenção da temperatura de acondicionamento da amostra é fundamental para garantir a viabilidade da amostra. [43,44,45] Apesar de este ser o procedimento mais usado, as questões sobre a sua optimização mantêm-se em aberto. Muitos estudos foram desenvolvidos para optimizar esta metodologia tendo em conta a sequência de eventos durante o processo de congelamento e descongelamento [43,44,45].

Na Criopreservação por Vitrificação submete-se a amostra e elevadas concentrações de agentes crioprotectores para aumentar a viscosidade dos meios intra e extracelulares. Este método permite a passagem do estado líquido para o estado vítreo sem a formação de cristais de gelo. A base da vitrificação é através da técnica modificada de OPS (“open pulled straw”). Usa-se uma sequência de soluções vitrificantes, constituídas por crioprotector, sais e macromoléculas. A primeira solução tem 10% de DMSO e 10 % de etilenoglicol e a segunda solução tem 20% de DMSO, 20% de etilenoglicol e 0,5mol/l de sacarose. A amostra é colocada na primeira solução durante 60 segundos e é adicionada a segunda solução durante 25 segundos. De seguida é transferida para uma alíquota da 2ª solução. As amostras são introduzidas em palhetas de OPS por capilaridade e arrefecidas em azoto líquido a -196°C . Na vitrificação, a taxa de recuperação celular após descongelação é elevada. Contudo

este processo tem pouca aplicabilidade em larga escala pois o trabalho de manipulação que envolve é muito exaustivo, e requer um aparelho de OPS especial e uma recolha individual das colónias de células estaminais [43].

Na Criopreservação Programada as células estaminais são colocadas em colunas de plástico e seladas. A temperatura das câmaras de congelação onde são postas é controlada para descer 2°C/min e o arrefecimento é processado até aos -7°C onde é mantido durante 10 minutos. Dos -7°C até aos -36°C a amostra é arrefecida à razão de -0,3°C/min. Dos -36°C até aos -95°C a razão aumenta para -20°C/min. Em seguida as colunas são mergulhadas em colunas de azoto líquido onde são armazenadas a -196°C. Este processo apresenta eficácia elevada contudo é um processo muito moroso e com necessidade de equipamento de congelação muito dispendioso para se poder estabelecer os patamares de congelação [43,44,45].

A criopreservação convencional é o método usado em maior escala, contudo não parece ser o mais eficaz. Estudos mostram que células criopreservadas convencionalmente morrem ou sofrem diferenciação com maior frequência. Durante o processo de congelamento ocorrem processos que induzem *stress* metabólico e que levam à perda de pluripotencialidade e ruptura de organitos celulares [43,44]. Este é, no entanto, o processo mais utilizado na criopreservação de células estaminais porque é o que requer um procedimento mais simples e a manipulação de maior volume de amostras [43].

8.2.6.Descongelo da amostra

O método standard para descongelamento consiste em colocar a amostra num banho de água a 37°C. Existem também estudos que mostram técnicas de descongelamento com calor seco aplicado por absorventes de gel também a 37°C. A viabilidade da amostra nos dois processos é comparável, contudo à menor risco de contaminação no método de descongelamento com calor seco [26].

9.Bancos de Recolha

Com a evidência da utilidade das células estaminais do sangue do cordão umbilical surgem em todo o mundo bancos de recolha e armazenamento deste material. Existem cerca de 142 Bancos de recolha e criopreservação em todo o Mundo e 25 privados e com perspectiva de um aumento exponencial no futuro. O crescimento dos bancos privados traz consigo questões éticas relacionados com a restrição ao público em geral por factores económicas,

bloqueando assim a possibilidade de transplantes autólogos a quem recorre apenas ao banco público para efectuar a colheita e criopreservação.

Muitos bancos públicos cooperam internacionalmente, publicando os registos em bases de dados, tal como se faz na doação de medula, de modo a facilitar o acesso a cada paciente que necessite.

Existem autoridades acreditadas que gerem e regulam a qualidade dessas bases de dados de modo a garantir os critérios de qualidade, o caso da Eurocord na Europa. São ciclicamente colhidos os resultados dessas entidades públicas para avaliar o número de casos de transplantes autólogos de dadores não relacionados.

Paralelamente ao desenvolvimento dos bancos públicos crescem também os bancos privados, onde a recolha é executada por instituições privadas que incentivam os pais a guardar as células estaminais do sangue do cordão umbilical para uso do próprio dador ou de um familiar. Neste caso o cordão umbilical é visto como seguro biológico e não como uma dádiva.

9.1. Bancos Público e Bancos Privados

Quando se opta pela criopreservação de células do sangue do cordão umbilical é importante perceber que há diferenças entre bancos públicos e privados.

Relativamente à amostra, nos bancos privados, esta será sempre propriedade do dador ou da família, podendo ser usadas apenas pelo próprio ou por um familiar compatível; nos bancos públicos a amostra é doada pela família à sociedade, deixa de ser propriedade do dador, qualquer pessoa, desde que compatível, poderá no futuro usufruir da amostra.

As amostras dos bancos públicos destinam-se, portanto, sempre a transplantes alogénicos, enquanto as do banco privado podem destinar-se a transplantes autólogos ou alogénicos (no seio familiar).

Os bancos privados cobram pela aquisição do kit de recolha e pelo serviço de subscrição, enquanto no banco público o serviço é completamente gratuito.

A capacidade de usar o sangue do cordão pode sempre depender da viabilidade comercial da empresa a longo prazo.

A barreira financeira pode limitar o acesso de várias famílias ao serviço privado. Esta situação levanta várias questões relativamente à igualdade de acesso a tratamentos médicos.

Enquanto a comunidade médica em geral apoia a existência de bancos públicos de sangue do cordão umbilical, a possibilidade de se criarem bancos privados tem levantado objecções por parte de muitos governos e organizações sem fins lucrativos.

9.2. Situação em Portugal

Em Portugal encontram-se actualmente em funcionamento pelo menos 8 bancos de células estaminais de sangue do cordão umbilical, um dos quais público. Nalguns é recolhido e processado apenas o sangue do cordão umbilical e noutros é processada também a recolha do tecido do cordão umbilical. Em Fevereiro de 2012 a ordem dos advogados publicava que apenas 4 deles eram autorizados pela ASST, os outros não preenchiam os requisitos legais impostos pela ASST com base na lei 12/2009 mas encontravam-se mesmo assim a laborar.

A Lei 12/2009 de 26 de Março regulamenta o regime jurídico da qualidade e segurança relativa à dádiva, colheita, análise, processamento, preservação, armazenamento, distribuição e aplicação de tecidos e células de origem humana.

A referida lei transpõe para a ordem jurídica interna as Directivas n 2004/23/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 31 de Março, 2006/17/CE, da Comissão, de 8 de Fevereiro, e 2006/86/CE, da Comissão, de 24 de Outubro.

A Lei n.º 12/2009 dispõe também sobre:

- Autorização do exercício da actividade;
- Inspeção e medidas de controlo;
- Rede nacional de tecidos e células;
- Rastreabilidade;
- Importação e exportação de tecidos e células de origem humana;
- Conservação de registos;
- Notificação de incidentes e reacções adversas graves;
- Requisitos da colheita de tecidos e células de origem humana;
- Qualidade e segurança de tecidos e células;
- Condições de armazenamento de tecidos e células;
- Rotulagem, documentação e embalagens;
- Distribuição;

- Relações entre os bancos de tecidos e células e terceiros;
- Selecção e avaliação dos dadores;
- Protecção e confidencialidade dos dados;
- Consentimento;
- Selecção, avaliação, colheita e recepção;
- Intercâmbio de informações e relatórios;
- Infracções e sanções;
- Taxas;
- Requisitos técnicos e respectiva adaptação ao progresso científico e técnico.

Apesar desta lei ter apenas 3 anos, existem bancos a laborar no nosso país há bastante mais tempo, tratava-se de uma realidade para a qual existia um vazio legislativo. As autoridades competentes, responsáveis pela verificação do cumprimento dos requisitos técnicos constantes da presente lei, são a Autoridade para os Serviços de Sangue e Transplantação, abreviadamente designada por ASST, e o Conselho Nacional de Procriação Medicamente Assistida, abreviadamente designado por CNPMA. A ASST, enquanto autoridade competente para os serviços de transplantação, tem por missão garantir a qualidade e segurança em relação à dádiva, colheita e análise de tecidos e células de origem humana, qualquer que seja a sua finalidade, bem como em relação ao processamento, armazenamento e distribuição. O CNPMA, enquanto entidade competente, tem por atribuições garantir a qualidade e segurança em relação à dádiva, colheita, análise, processamento, armazenamento e distribuição de células reprodutivas e de células estaminais embrionárias humanas. Compete ainda à ASST coordenar, orientar, regulamentar e fiscalizar, a nível nacional, a actividade de colheita, análise, processamento, armazenamento, distribuição e transplantação de tecidos e células de origem humana. A ASST tem ainda a missão da autorização dos bancos de tecidos e células no que respeita às actividades de colheita, análise, armazenamento e distribuição de acordo com a presente lei.

Tabela 4 - Bancos de criopreservação de células estaminais existentes em Portugal

Banco de Criopreservação	Tipo de Banco	Tipo de Recolha	Custo total (euros)	Website
Crioestaminal	Privado	Sangue +tecido	1790	www.crioestaminal.com
Cytotera	Privado	Sangue +tecido	1625	www.cytothera.pt
Bébevida	Privado	Sangue +tecido	1795	www.bebevida.pt
Criobaby	Privado	Sangue +tecido	1620	www.criobaby.pt
FutureHealth	Privado	Sangue+tecido	1790	www.futurehealthbiobank.pt/
Criovida	Privado	Sangue	1112,12	www.criovida.pt
Bioteca	Privado	Sangue	Sem informação	www.bioteca.pt
Lusocord	Público	Sangue	Gratuito	www.chnorte.min-saude.pt/lusocord.php

A Crioestaminal Saúde e Tecnologia, SA foi fundada em 2003 e foi a primeira em Portugal, e a terceira a nível europeu, no isolamento e criopreservação de células estaminais do sangue do cordão umbilical, com mais de 50 000 clientes e 12 transplantes em 7 crianças. Além de ser a maior empresa de criopreservação a nível nacional, a Crioestaminal encontra-se também em Espanha e Itália. É a primeira empresa autorizada pela ASST e única em Portugal acreditada pela AABB - Associação Americana de Bancos de Sangue, uma das duas entidades a nível mundial que estabelece critérios de qualidade específicos para os bancos de sangue do cordão umbilical. Além disso, é a primeira empresa a disponibilizar o Acompanhamento Médico Personalizado e Apoio ao Tratamento até 20 000€ em caso de utilização das células estaminais do sangue do cordão umbilical [34].

A Bioteca S.A. é um dos primeiros laboratórios de criopreservação em Portugal, tratando-se de uma empresa de capital em que participam o Grupo Lena, um dos grupos económicos do país, a InovCapital que é a Sociedade de Capital de Risco de referência do Ministério da

Economia e da Inovação. A Bioteca possui certificação pela APCER (Associação Portuguesa de Certificação) e o primeiro *kit* com registo no INFARMED. Para o processamento das células estaminais, a Bioteca utiliza uma tecnologia certificada pela FDA. O armazenamento das amostras é feito em saco único, sendo que o plasma é armazenado separadamente para a eventualidade de ser necessário efectuar testes adicionais [40].

A Bebé Vida surgiu em 2005, sendo a segunda empresa do sector a surgir em Portugal. A Bebé Vida garante uma dupla protecção da amostra criopreservada, devido a uma bolsa de isolamento, denominada *Over Wrap*, que previne a deterioração da bolsa de criopreservação durante o tempo que permanece armazenada. Além disso, paralelamente ao saco de células estaminais, esta empresa criopreserva um fragmento do cordão umbilical, assim como o plasma e eritrócitos do sangue do cordão umbilical de forma a, se for necessário realizar testes suplementares, estes sejam efectuados na seroteca fetal, não interferindo com a criopreservação das células estaminais. Em Fevereiro de 2012, o laboratório da BEBÉ VIDA recebeu a autorização do Ministério da Saúde, através da Autoridade para os Serviços de Sangue e da Transplantação (ASST) para a prestação dos serviços de análise, processamento e criopreservação de células estaminais mesenquimatosas do tecido do cordão umbilical, de acordo com a Lei 12/2009 de 26 de Março [35].

A Cytothera está inserida no grupo Medinfar. Além do Cytothera Baby, que permite recolher, processar e criopreservar células estaminais obtidas do sangue do cordão umbilical, disponibiliza ainda outros serviços como o Cytothera Cord que, possibilita recolha do tecido do cordão umbilical, de forma a efectuar a criopreservação de células estaminais hematopoiéticas e mesenquimatosas. Há ainda uma terceira possibilidade, o Cytothera Plus, que engloba os outros dois, constituindo um serviço único na Europa na área da biotecnologia clínica. As células estaminais do tecido do cordão umbilical são separadas do tecido, concentradas e purificadas por cultivo e criopreservadas em suspensão, garantindo a viabilidade e competência celulares e um elevado grau de qualidade e pureza das células mesenquimatosas obtidas, cumprindo as mesmas com todos os critérios de identidade e manutenção do carácter estaminal definidos pela ISCT (International Society for Cellular Therapy). A Criovida é o primeiro banco de sangue do cordão umbilical a oferecer uma colheita, transporte, processamento, isolamento e criopreservação certificados de células estaminais para as famílias, segundo as normas Netcord e da Foundation for the Accreditation of Cell Therapy (FACT). O serviço de criopreservação engloba, além do armazenamento das células estaminais do cordão umbilical, uma amostra inicial do sangue do

cordão umbilical e de plasma, bem como um fragmento do cordão umbilical e do seu sangue periférico, recolhido no dia do parto, permitindo a realização de exames complementares fidedignos [36].

O FutureHealth foi o primeiro banco familiar de sangue do cordão umbilical no Reino Unido a receber uma creditação total como banco de tecidos humanos (creditação concedida em 2004 pela Medicines & Healthcare products Regulatory Agency (MHRA), do Departamento de Saúde do Reino Unido. Com laboratórios em vários países, propositadamente construídos para o efeito, seguem à risca as directrizes do Código de Conduta para Bancos de Tecidos Humanos, as indicações para Segurança Microbiológica de Órgãos, Tecidos e Células Humanas, e as Boas Práticas de Fabrico (cGMP - Good Manufacturing Practices). A Future Health está sediada em Nottingham, no Reino Unido, onde possui laboratórios próprios, construídos de raiz, instalações de armazenamento e escritórios. Recolhem amostras de 43 países a nível mundial [38].

A Criobaby é uma empresa sediada em Portugal, mas com ligação a outros países como sejam Espanha e Itália. Para além do sangue do cordão umbilical, a Criobaby criopreserva gratuitamente o fragmento do cordão umbilical, bem como uma amostra do sangue periférico da mãe, pois só assim se consegue realizar exames complementares fidedignos. Tem um Plano Protecção de Saúde que garante uma verba até 20 000 euros caso tenha que utilizar a amostra de sangue do cordão para uma terapia celular. Esta protecção é válida para o bebé, assim como para os familiares directos (pai, mãe e irmãos) [37].

O Lusocord é o único Banco público de recolha e criopreservação de células estaminais do sangue do cordão umbilical, de âmbito nacional, que deverá receber as dádivas de sangue do cordão umbilical (SCU) de todas as mães que o queiram doar para uso em transplantação e investigação. Este Banco colaborara com todos os Centros Nacionais e Internacionais de Transplantação promovendo a investigação e o desenvolvimento da aplicação das células estaminais à medicina regenerativa. Colabora, mediante protocolos, com as instituições de saúde e as universidades a nível nacional e internacional. O Lusocord assegura a promoção da dádiva, a colheita de SCU, a confidencialidade, a rastreabilidade, os registos, as bases de dados e a criopreservação. É um banco acreditado pela European Federation of Immunogenetics (EFI) e com certificação de qualidade pela NP EN ISSO 9001:2008. É um serviço gratuito para os pais [41].

9.3. Situação no Mundo

A NETCORD é uma organização sem fins lucrativos que promove a criação de bancos de SCU de alta qualidade, cujos membros constituem a maior fonte de enxertos de sangue do cordão umbilical. Fundada em 1997, a NetCord tem actualmente cerca de 35 bancos membros e registos com um inventário que ultrapassa 211 000 unidades, representando cerca de 51% do suprimento global de sangue do cordão umbilical (tabela 4). Em colaboração com a (FACT) publicaram em 2000 as primeiras normas internacionais para colheita de sangue de cordão umbilical.

A FACT foi fundada em 1996 pela American Society for Blood and Marrow Transplant (EBMT) e pela —International Society for Cellular Therapy (ISCT), ambas responsáveis pela criação da JACIE, entidade encarregada da elaboração dos padrões qualitativos para os produtos e práticas relacionadas com as terapias celulares.

A NetCord patrocina normas e acreditação para os bancos de sangue do cordão umbilical. Além disso, promove estudos e pesquisas sobre os processos de colheita de sangue do cordão, a caracterização e conservação de células, ex-vivo expansão do sangue do cordão umbilical placentário e do cordão umbilical, e melhoria da qualidade dos componentes do sangue para a terapia celular clínica. NetCord possui um escritório virtual para pesquisa online e recolha de células correspondentes. Localizado na www.netcord.eu, o Escritório Virtual permite aos centros de transplante e coordenadores pesquisar o stock inteiro dos bancos membros sem nenhum custo e encontrar disponíveis, unidades compatíveis.

Devido a um acordo celebrado com o Programa Nacional de Doadores de Medula Óssea (NMDP) nos Estados Unidos, pesquisas realizadas por meio do Escritório Virtual NetCord também incluem o inventário dos bancos filiados ao NMDP e vice-versa. A recolha e análise de dados clínicos e tratamento de resultados são coordenados com a Eurocord e com o Centro de Sangue Internacional e Pesquisa de Transplante de Medula Óssea (CIBMTR). A Tabela 5 apresenta as amostras de sangue de cordão umbilical colhidas e transplantadas em Baancos Públicos acreditados pela NETCORD e em processo de acreditação.

Tabela 5 – Número de amostras armazenadas e transplantadas em cada banco público acreditados ou em processo de acreditação pela NETCORD (adaptado de [49]).

Banco cordão umbilical	Amostras Colhidas	Amostras Transplantadas	Crianças	Adultos
Netcord/Fact Acreditados				
Barcelona	13299	679	242	411
Besancon	259	488	140	348
Dusseldorf	17075	694	343	311
Durha	22889	1147		
Helsinki	3039	28	15	13
Houston	10551	300	119	181
Leiden	3642	80	35	45
Liege	2084	125	51	74
London	12120	294	151	143
Milan	7853	406	209	197
New York	50936	3275	1972	1303
Pavia	2600	125	49	76
Tel Hasomer	1463	18	10	8
Sub-Total	151810	7659	3336	3110
Netcord/Fact Não Acreditados				
Athen	1987	7	6	1
Bratislava	605	5	1	4
Brussels	1335	28	9	19
Dresden	2385	8	6	2
Dubai	250	0		
Firenze	1117	82	36	46
Gauting	2810	66	25	41
Gent	1810	55	11	24
Goteborg	1322	5	1	3
Leuve	8542	148	75	73

Louvain	1909	101	37	64
Málaga	15062	123	44	79
Mannheim	1791	71	20	51
Mexico City	1719	183	126	57
Padova	1509	63	20	43
Pescara	413	5	2	2
Prague	3310	47	18	29
Roma Lazio	1410	58	26	32
Santiago de Compostela	5140	56	30	26
Tokio	5646	951	237	714
Sub-Total	60072	2062	730	1310
Total	211882	9721	4066	4420

Segundo A Bone Marrow Donors Wordwilde o número de unidades armazenadas em bancos de cordão umbilical em todo o mundo actualmente ascende já às 540 mil unidades (figura 4).

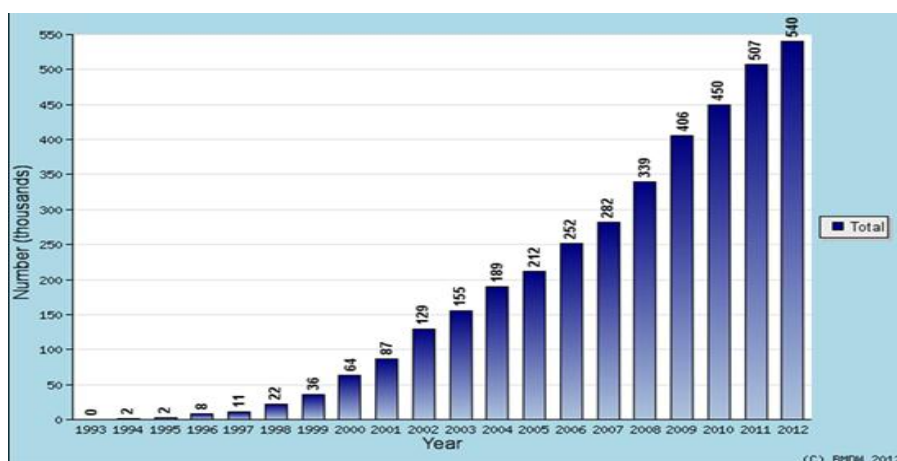


Figura 4- Número de unidades de cordão umbilical armazenadas em bancos de cordão umbilical no Mundo, por ano. (Fonte: [48]).

O primeiro Banco Público de CESCU surgiu em 1992 no New York Blood Center, desde então o aparecimento de novos Bancos tem sido crescente, existindo Mundialmente à data cerca de 142 Bancos Públicos e 25 Privados envolvidos na recolha, processamento criopreservação de CESCU [40].

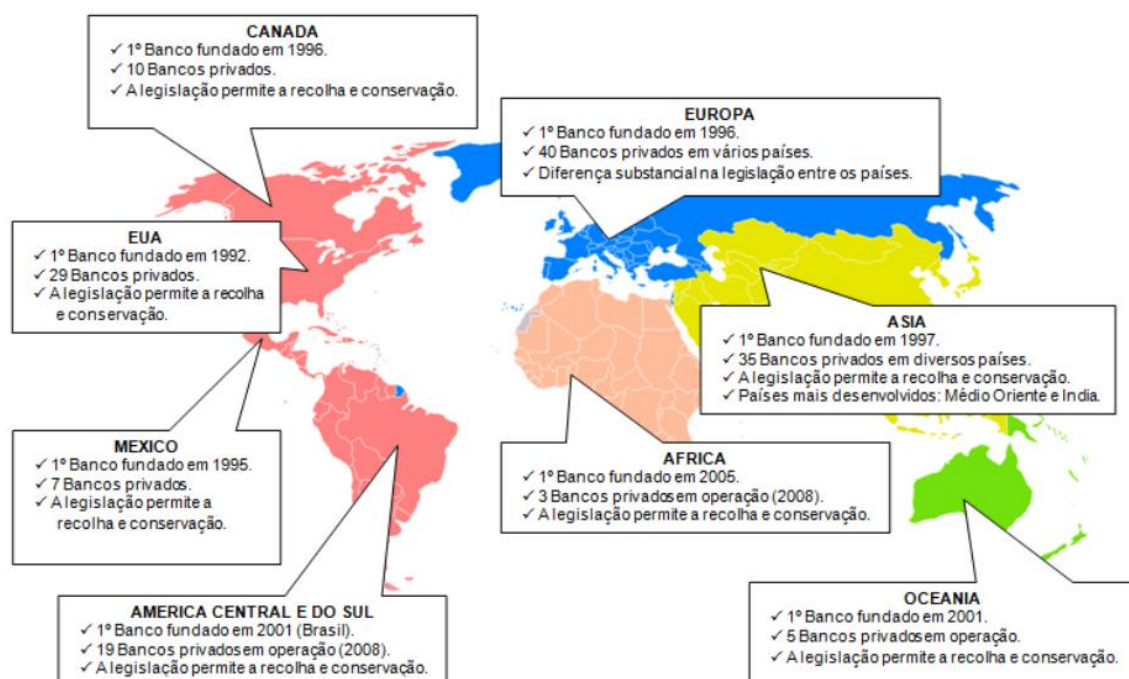


Figura 5 – Conjuntura mundial relativa à criopreservação de células estaminais umbilicais [67].

10. Considerações da Comunidade Científica

Nietfeld et al (2008) calculou a probabilidade vitalícia (até à idade de 70 anos) de um indivíduo nos Estados Unidos se submeter a um transplante de células estaminais do sangue do cordão umbilical. A probabilidade de um transplante autólogo usando as suas próprias células estaminais é de 1 em 435, enquanto a probabilidade de um transplante alogénico de um dador compatível (como por exemplo um irmão) é de 1 em 400 e a probabilidade exacta de qualquer tipo de transplante com células estaminais é de 1 em 217.

○ National Marrow Donor Program prevê que por volta do ano 2015 haja, a nível mundial, 10 000 transplantes de sangue do cordão por ano, usando sangue do cordão armazenado em bancos públicos.

A European Union Group on Ethics (EGE) concluiu no Opinion No.19 sob o título *Ethical Aspects of Umbilical Cord Blood Banking (Questões Éticas Relacionadas com o Armazenamento de Sangue do Cordão)* que “a legitimidade de bancos comerciais de sangue de cordão para uso autólogo deve ser questionada, dado venderem um serviço que, presentemente, não tem utilidade real no que concerne a opções terapêuticas, logo, prometem mais do que podem efectivamente cumprir. A actividade de tais bancos suscita sérias críticas a nível ético.”

Em Maio de 2006, A World Marrow Donor Association (WMDA) (Associação Mundial de Doadores de Medula) através da sua Policy Statement for the Utility of Autologous or Family Cord Blood Unit Storage (Declaração de Princípios para a Utilidade da Armazenamento de Unidades de Sangue do Cordão, Autólogo ou de Familiares), estipulava que: a) O uso de células autólogas de sangue do cordão para tratamento da leucemia infantil é contra-indicado uma vez que as células pré-leucémicas estão presentes na altura do nascimento. As células autólogas de sangue do cordão são portadoras dos mesmos defeitos genéticos do doador e não devem ser usadas no tratamento de doenças genéticas. b) Presentemente, não há nenhum protocolo conhecido envolvendo a utilização de células estaminais autólogas de sangue do cordão utilizadas em tratamentos. c) Se os tratamentos com células estaminais autólogas se tornarem realidade no futuro, estes protocolos provavelmente assentarão na facilidade de acesso a células estaminais.

A opinião do Royal College of Obstetricians and Gynaecologists, em 2006, declara que “Ainda não há provas suficientes para recomendar recolhas comerciais direccionadas de sangue do cordão nem o armazenamento de células estaminais em famílias de baixo-risco.”

A política da Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada (SOGC) apoia o armazenamento público de sangue do cordão, de forma altruísta.

A política da American Academy of Pediatrics declara que “o armazenamento privado de sangue do cordão como seguro biológico é imprudente e insensato” a menos que haja um membro na família com uma necessidade potencial ou corrente de se submeter a um transplante de células estaminais.

Similarmente, o American College of Obstetricians and Gynecologists não recomenda a criação de bancos privados de sangue do cordão.

A American Society for Blood and Marrow Transplantation (ASBMT) defende que a doação pública de sangue do cordão é encorajada sempre que possível e que a probabilidade de usar o próprio sangue do cordão é muito pequena; por isso, o armazenamento de sangue do cordão para uso pessoal não é recomendado e a armazenagem de sangue do cordão de familiares (recolha e armazenagem de sangue do cordão para um membro da família), recomenda-se unicamente quando um irmão tem uma doença que pode ser tratada com sucesso através de transplante alogénico.

II. O Farmacêutico Comunitário e a informação sobre Células estaminais do Sangue do Cordão umbilical

O farmacêutico é um agente de saúde cumprindo-lhe executar todas as tarefas que ao medicamento concernem, todas as que respeitem às análises clínicas ou análises de outra natureza de idêntico modo susceptíveis de contribuir para a salvaguarda da saúde pública e todas as acções de educação dirigidas à comunidade no âmbito da promoção da saúde.

Todos os dias na nossa profissão somos confrontados com utentes cada vez mais informados e exigentes, que recorrem à Farmácia Comunitária para obter informação acerca dos mais variados temas relacionados não só com patologias específicas, mas também com outras áreas relacionadas com a Saúde Pública em geral. Considerando a constante evolução das ciências farmacêuticas e médicas, o farmacêutico deve manter actualizadas as suas capacidades técnicas e científicas para melhorar e aperfeiçoar constantemente a sua actividade, para que possa desempenhar conscientemente as suas obrigações profissionais perante a sociedade.

As Células Estaminais do Sangue do Cordão Umbilical é hoje um assunto que está na ordem do dia e sobre o qual existe uma panóplia de informação à disposição dos utentes. Desde sítios na internet, passando por panfletos informativos e por campanhas publicitárias nos meios de comunicação a informação chega até nós vinda de várias fontes. Ora, tendo em vista que no exercício da actividade farmacêutica, em todas as situações, o objectivo é a satisfação do utente, cabe ao Farmacêutico, na Farmácia, poder informá-lo de um modo científico e conciso sobre este assunto. A Farmácia Comunitária apresenta hoje em dia horários alargados, que facilitam o acesso do utente a este espaço de saúde. Por outro lado, a informação é gratuita e veiculada por um profissional de Saúde para isso habilitado.

Como agente de saúde, o farmacêutico tem a obrigação de colaborar activamente com os serviços públicos e privados nas iniciativas tendentes à protecção e preservação da saúde pública e é nesse sentido que na Farmácia Comunitária se poderá adquirir Kit's de Criopreservação de Células Estaminais de um Banco Privado.

Ao farmacêutico é vedado colaborar com entidades singulares ou colectivas, públicas ou privadas, sempre que dessa colaboração possa resultar violação das leis e regulamentos que regem o exercício e os legítimos interesses da

profissão farmacêutica. A informação transmitida ao utente deve ser clara e não beneficiando nenhuma das Instituições que actuam na Criopreservação das Células Estaminais.

O farmacêutico deve manter-se constantemente informado sobre os pareceres e resoluções do Conselho Nacional de Ética para as Ciências da Vida em relação às implicações de natureza ética e social resultante das aplicações das novas tecnologias à vida humana. É por isso que pode este profissional de Saúde ser o mais indicado para esclarecer as dúvidas dos utentes sobre as Células Estaminais do Cordão Umbilical, uma vez que é um assunto com grandes questões éticas inerentes.

O farmacêutico deve informar com a mais rigorosa correcção os utentes, adequando a linguagem de modo a fazer-se compreender cumprindo escrupulosamente o seu dever profissional e tendo sempre presente que se encontra ao serviço da saúde pública e dos doentes.

No exercício da sua profissão o farmacêutico deve ter sempre presente o elevado grau de responsabilidade que nela se encerra, o dever ético de a exercer com a maior diligência, zelo e competência e deve contribuir para a realização dos objectivos de uma correcta política de saúde.

Neste assunto específico, o farmacêutico deve contribuir para que as decisões dos Pais neste campo sejam tomadas em consciência, com a certeza que beneficiaram de toda a informação que foi necessária para o fazer.

2ªCAPÍTULO

Metodologia

Com o intuito de realizar uma análise sobre o conhecimento real de futuras mães sobre as células estaminais do sangue do cordão umbilical, realizou-se um inquérito de resposta simples com 14 perguntas abrangendo vários aspectos práticos deste assunto. Foi efectuado um estudo prospectivo passando a estratégia por entregar um único questionário a grávidas que recorressem ao serviço de Urgência de Obstetrícia da Maternidade Bissaya Barreto na cidade de Coimbra no período de Março a Junho de 2012. A amostra trabalhada foi composta por 48 mulheres grávidas que se voluntariaram a responder ao questionário. A pesquisa feita através desse questionário e procurou obter aspectos generalistas sobre o conhecimento relativo às células estaminais do sangue do cordão umbilical, aos seus usos terapêuticos, às condições em que é feita a colheita, aos custos inerentes ao processo de recolha e criopreservação pelos pais quando se decidem pela criopreservação num banco privado, e às diferenças entre os bancos privados e público. Pretendeu-se também saber qual a decisão das futuras mães em relação à recolha ou não das células estaminais do sangue do cordão umbilical e em que condições.

3^a CAPÍTULO

Resultados:

Foram preenchidos 48 questionários por 48 mulheres grávidas que recorreram às consultas externas na Maternidade Bissaya Barreto entre Março e Junho de 2012.

A amostra continha mulheres com idades compreendidas entre os 20 e os 40 anos de idade, apresentando-se 8.3% da população na faixa etária dos 20 aos 25 anos, 35.4% com idades compreendidas entre os 26 e os 30 anos e 56.3% com idades entre os 31 e 40 anos (Figura 1). A média de idades é de 31,15 anos \pm 3,94.

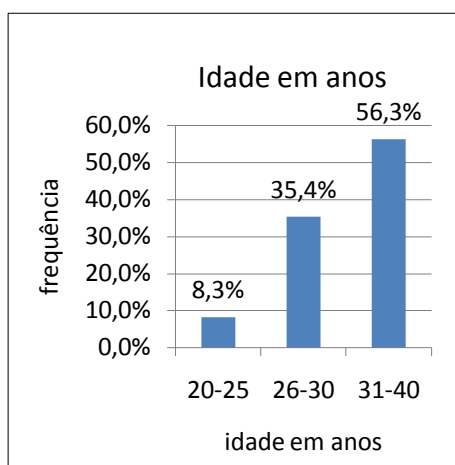


Figura 1 - Distribuição da idade das mulheres da amostra (n=48).

Em relação ao número de filhos das mulheres que responderam ao inquérito a distribuição está representada na figura 2. A percentagem maior (77.1%) corresponde a mulheres que ainda não tinham filhos, e por isso ainda não tinham recorrido a qualquer serviço de criopreservação de células estaminais até então. Apenas 20,8% estavam grávidas do seu segundo filho e 2,1% estavam à espera do 4º filho. Esta distribuição está de acordo com a tendência para o decréscimo da taxa de natalidade que ocorre actualmente em Portugal.

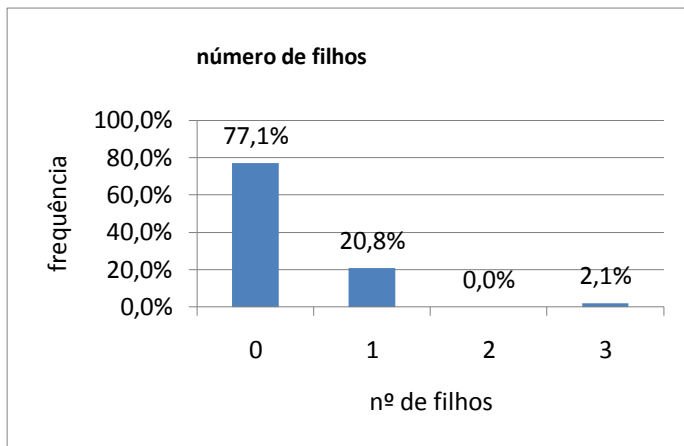


Figura 2- Número de filhos das mulheres da amostra (n= 48)

No que se refere ao número de semanas de gestação a distribuição das respondentes está reunida na figura 3.

A amostra tem maior percentagem de grávidas entre as 30 e as 35 semanas (52.1%) e apenas 14.6% estão antes das 30 semanas, ou seja, a nossa amostra é constituída maioritariamente por mulheres que à partida já teriam conhecimentos reunidos sobre o tema que estamos a explorar, uma vez que se encontram no último trimestre de gravidez e 29.2% já mesmo no último mês de gestação (Figura 3).

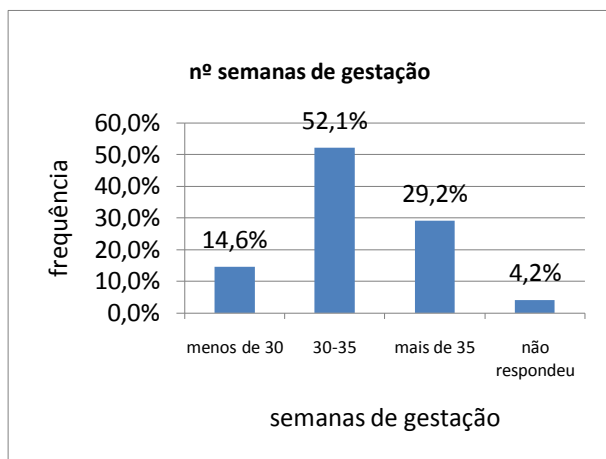


Figura 3- Número de semanas de gestação das mulheres da amostra (n= 48)

Em relação à área profissional das inquiridas, 10.4% exerce uma actividade profissional na área da saúde e, portanto, têm potencialmente um leque de conhecimentos mais profundo na área das células estaminais do sangue do cordão umbilical. Mas 62.5 % das inquiridas trabalham em áreas não ligadas à saúde e teoricamente com menos contacto com informação nesta área. A percentagem de desempregadas é de 10.4% e 4.2% são mulheres

que ainda não finalizaram o seu percurso académico e se encontram a estudar. Estes 2 grupos (desempregadas e estudantes) apresentam teoricamente um perfil financeiro menos favorável, que pode influenciar a decisão da recolha ou não das células estaminais e em que condições. Isto porque a criopreservação nas instituições privadas envolve hoje em dia custos avultados para os pais. Houve ainda uma parte da amostra que não respondeu à pergunta (12.5%) (Figura 4).

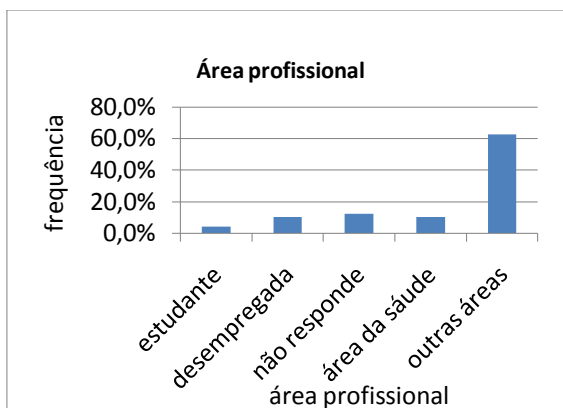


Figura 4- Perfil profissional das mulheres da amostra (n=48)

Relativamente à morada das inquiridas a distribuição é representada na figura 5. A maioria das mulheres alvo do inquérito (58.3%) reside fora de Coimbra, sendo que 41.7% habitam em Coimbra ou arredores. A Morada das inquiridas pode ser um factor determinante para o grau de informação nesta área. Presume-se que em meios urbanos haja maior informação disponível (publicidade, campanhas de informação e sensibilização efectuadas pelas instituições de criopreservação,etc) do que fora deles.

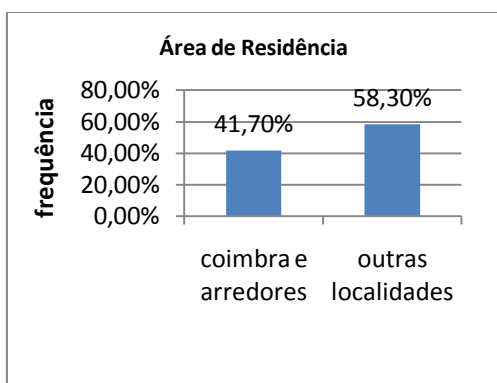


Figura 5- Zona de residência das mulheres da amostra (n=48)

À sexta pergunta do inquérito (*Sabe o que são as células estaminais do sangue do cordão umbilical?*) as respostas estão representadas na figura 6. Maioritariamente (52,1%) as inquiridas responderam afirmativamente à questão colocada, 43,8% da amostra respondeu “Vagamente”, o que sugere que uma parte significativa das mulheres ainda parece ter dúvidas sobre este assunto. As restantes 4,2% (2 mulheres) desta amostra afirma mesmo não saber o que são as células estaminais do sangue do cordão umbilical. Estas que responderam não saber o que eram as células estaminais do sangue do cordão umbilical, não responderem às restantes perguntas do questionário, assim as respondentes passam a ser 46 para as restantes questões.

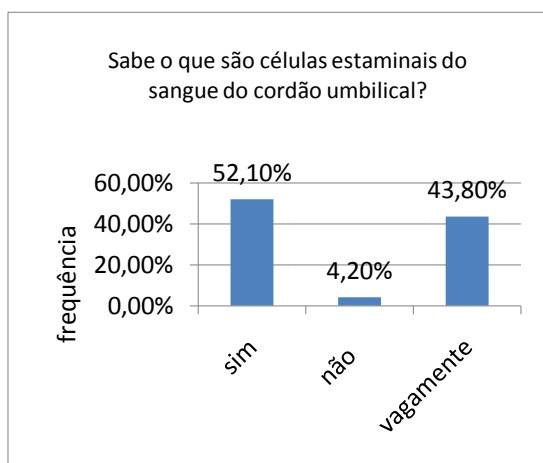


Figura 6- distribuição das respostas à pergunta “*Sabe o que são as células estaminais do sangue do cordão umbilical?*” (n=48)

Para avaliar se tinham conhecimento do tempo durante o qual são preservadas as células estaminais do sangue do cordão umbilical foi elaborada a pergunta do inquérito (*Sabe por quanto tempo são preservadas as células estaminais do sangue do cordão umbilical do seu bebé após a recolha no parto?*). A resposta foi maioritariamente afirmativa (63,2%), 13,0% revela não saber e 23,8% afirma saber vagamente (Figura 7). Esta distribuição revela que grande parte da amostra parece já ter recolhido informação sobre este item mas ainda à uma parte significativa da amostra que parece ter necessidade de uma maior clarificação deste parâmetro.

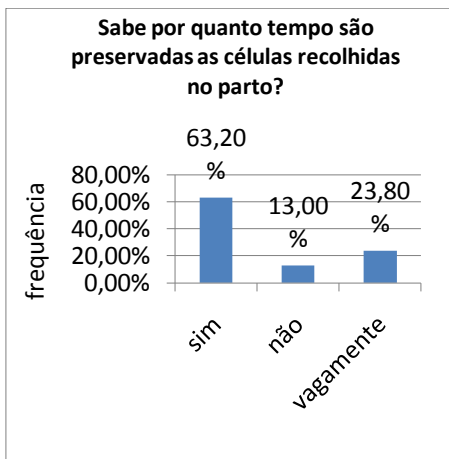


Figura 7- Distribuição das respostas à pergunta “Sabe por quanto tempo são preservadas as células recolhidas na altura do parto?”(n=46)

À pergunta (Sabe se a amostra recolhida pode ser utilizada mais do que uma vez?) a distribuição foi a apresentada na Figura 8. A amostra apresenta igual percentagem de inquiridas a responderem Sim e Não. E 20% das mulheres afirma saber “vagamente”. Esta distribuição denota ainda um grande desconhecimento no que toca a este parâmetro em particular.

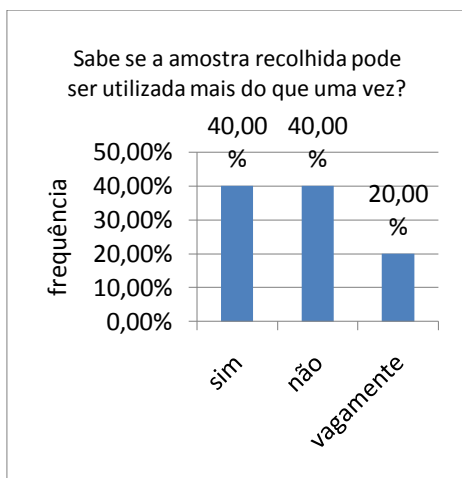


Figura 8- Distribuição das respostas à pergunta “Sabe se a amostra recolhida pode ser utilizada mais do que uma vez?” (n=46)

Para avaliar se as inquiridas teriam conhecimento se o processo de recolha seria doloroso ou não para si e para o bebé foi realizada a pergunta 9 do questionário. A distribuição percentual está representada na figura 9.

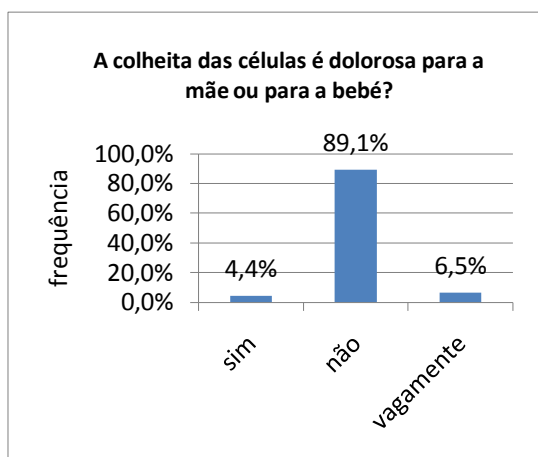


Figura 9- Distribuição das respostas à pergunta “A colheita das células é dolorosa para a mãe ou para o bebé?” (n=46).

Como mostra a Figura 9, 89,1% das inquiridas sabe que o processo é indolor para si e para o bebé, 6,5% diz saber vagamente e 4,4% afirma que a colheita é dolorosa. Apesar da maioria da amostra saber a resposta correcta a esta pergunta, este é um aspecto importante para esclarecer os pais.

À questão seguinte do questionário “Sabe em que altura da gravidez tem que tomar a decisão da recolha ou não das células estaminais do sangue do cordão umbilical do seu bebé?” a maioria das inquiridas reconhece saber quando têm que tomar a decisão (65,2%), 23,9% não sabe exactamente quando tem que tomar uma decisão, e 10,9% responde “vagamente” (Figura 10). Tendo em conta que a maioria das grávidas inquiridas já se encontra após as 30 semanas de gestação, esta já devia ser uma questão que apresentasse uma maior percentagem de inquiridas a responder afirmativamente. O facto da tardia tomada de decisão da recolha das células pode impedir o correcto desenrolar do processo, uma vez que há procedimentos que têm de ser seguidos atempadamente (preenchimento de consentimento informado dos pais, análises sanguíneas à mãe, inquéritos para avaliar antecedentes familiares de doenças, etc).

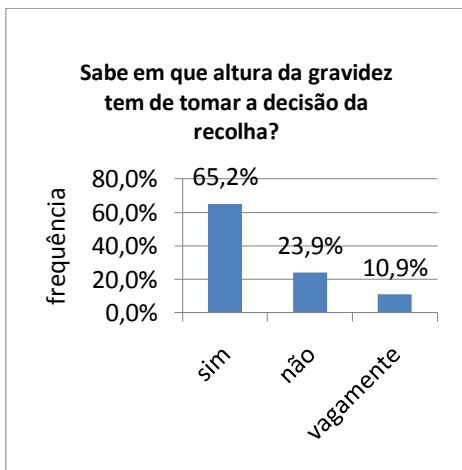


Figura 10- Distribuição das respostas à pergunta “Sabe em que altura da gravidez tem de tomar a decisão da recolha?” (n=46).

Na avaliação do conhecimento das inquiridas relativamente à existência de empresas ou instituições de recolha e preservação de células do sangue do cordão umbilical (Figura 11), a maioria (87.0%) respondeu ter conhecimento de instituições que fazem este processo, 6,5% refere não conhecer este tipo de instituições e 6,5% das mulheres diz conhecer “vagamente” este tipo de instituições. Esta distribuição sugere que as instituições de recolha já são hoje em dia conhecidas pela maioria das mulheres, contudo, apesar dos variados meios de informação disponíveis actualmente (revistas, media, panfletos, profissionais de saúde) esta informação ainda não chega a toda a população.

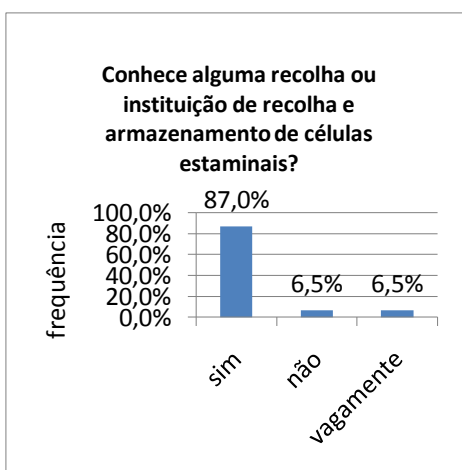


Figura 11- Distribuição das respostas à questão “Conhece alguma empresa ou instituição de recolha e armazenamento de células estaminais?” (n=46).

Na pergunta “Sabe se as células estaminais do sangue do cordão umbilical podem ser utilizadas por familiares do dador?”, 73,3% das inquiridas afirmam ter conhecimento, 20,0% afirma não saber e 6,7% respondem “vagamente”.

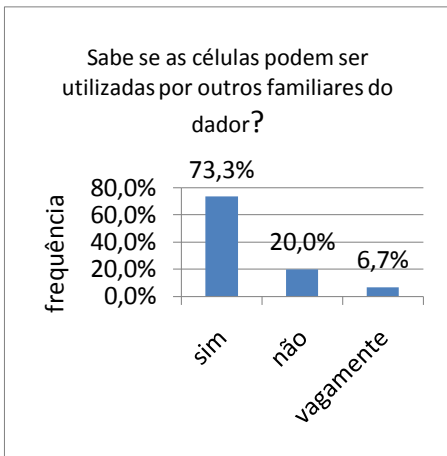


Figura 12- Distribuição das respostas à pergunta “Sabe se as células podem ser utilizadas por outros familiares do dador?” (n=46).

Relativamente aos custos que a recolha das células estaminais do sangue do cordão umbilical pode ter (Figura 13), 78,3% das inquiridas mostra estar informada, 8,7% não tem conhecimento dos valores e 13,0% aparenta ter uma ideia e responde Vagamente. A distribuição percentual da frequência das respostas está representada no gráfico 13.

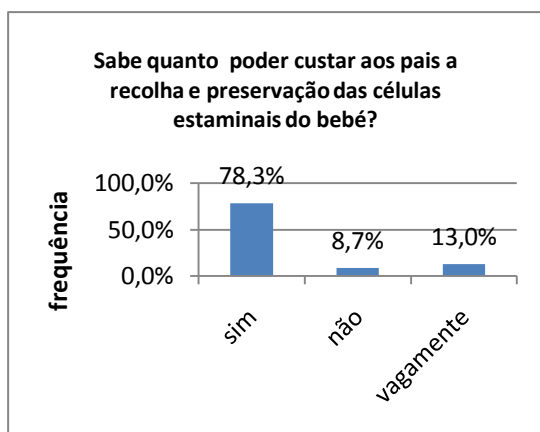


Figura 13- Distribuição das respostas à pergunta “Sabe quanto pode custar aos pais a recolha e preservação das células estaminais do bebé?” (n=46).

Quando se questionou sobre a existência de banco público de recolha e preservação de células estaminais no nosso país, 76,1% afirmou ter conhecimento da sua existência mas ainda uma percentagem significativa de grávidas (21,7%) desconhece a existência do banco público e 2,8% das inquiridas não tem a certeza da existência e por isso responde “Vagamente” à pergunta.

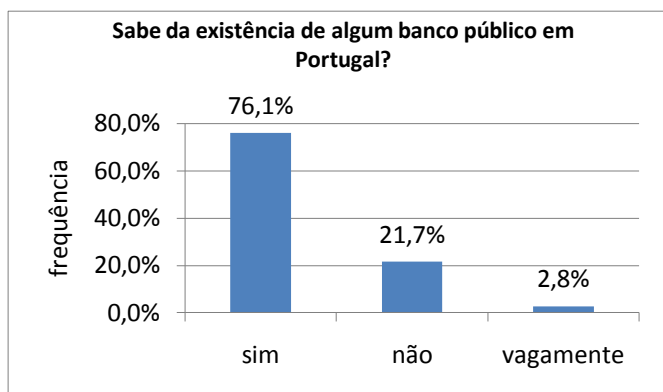


Figura 14 - Distribuição das respostas à pergunta “Sabe da existência de algum banco público em Portugal?” (n=46).

Quando questionadas com a pergunta (*Sabe quais as principais diferenças entre bancos públicos e privados?*) apenas 50% das mulheres responderam saber essas diferenças (Figura 15). Uma percentagem de 15,2% refere não saber as diferenças e 34,8% refere saber vagamente. Esta distribuição percentual mostra-nos que apesar de 76,1% terem afirmado saber da existência de um banco público na pergunta anterior, muitas delas não conhecem o seu funcionamento e não sabem o que distingue bancos privados do público.

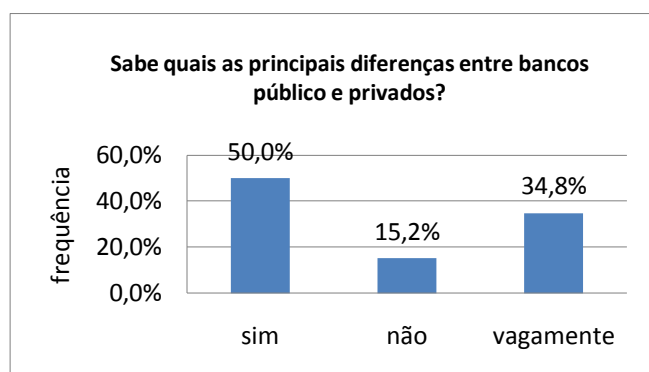


Figura 15- Distribuição das respostas à pergunta “Sabe quais são as diferenças principais entre bancos públicos e privados?” (n=46).

A maioria das grávidas (52,2%) não tem informação sobre os dias de abertura das instituições de recolha e criopreservação, além disso 10,8% tem algumas dúvidas sobre esse aspecto. Apenas 37,0% afirmam saber dos dias de semana a que estas instituições laboram (Figura 16).

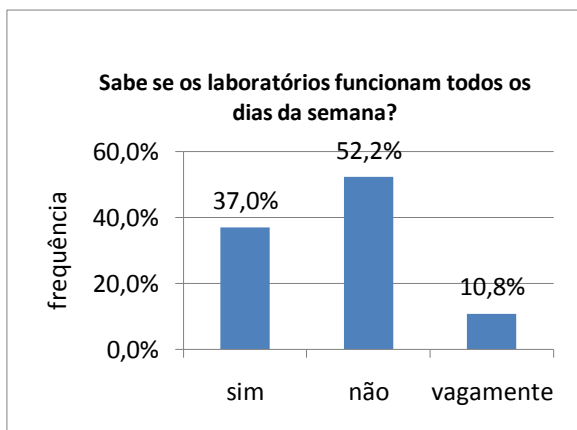


Figura 16- Distribuição das respostas à pergunta “Sabe se os laboratórios funcionam todos os dias da semana?” (n=46).

Quando confrontadas se já tinham ou não tomado a decisão do que fazer às células estaminais do sangue do cordão umbilical do bebé, 65,2% das mulheres afirmaram já o ter feito e 34,8% ainda não tinha tomado essa decisão (Figura 17). A percentagem de grávidas que referiu ainda não ter tomada a decisão é ainda assim bastante significativa se tivermos em atenção que a maioria das mulheres da amostra se encontrava no último trimestre da gravidez.

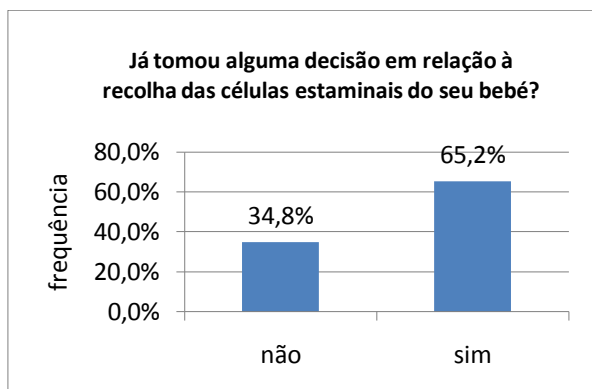


Figura 17- Distribuição das respostas à pergunta “Já tomou alguma decisão em relação à recolha das células estaminais do seu bebé?” (n=46).

Das grávidas com a decisão tomada, a maioria encontra-se após as 30 semanas de gravidez, sendo que 66,7% se encontram entre as 30 e 35 semanas de gestação e 30% depois das 35 semanas de gestação. Apenas 13,3% das inquiridas com uma decisão tomada se encontra antes das 30 semanas de gestação. (Figura 18)

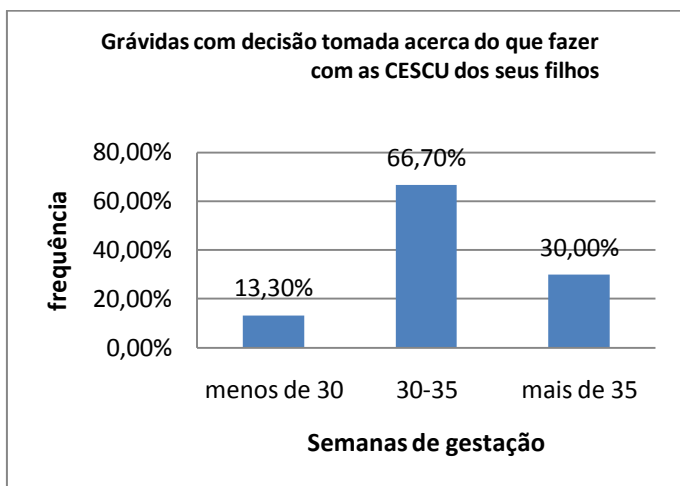


Figura 18- Distribuição das grávidas com uma decisão tomada em relação ao que fazer com as CESCO dos filhos por semanas de gestação (n=30).

Das 30 inquiridas que afirmaram já ter tomada a decisão do que fazer às células estaminais do cordão umbilical do seu filho as decisões tomadas apresentam-se na Figura 19. Da parte da amostra que já havia tomado uma decisão, 40% das inquiridas optam por não recolher as células estaminais do seu bebé, 30% opta por fazer a recolha para o banco público, apenas 10% opta por fazer a recolha em bancos privados. E 20 % das inquiridas, apesar de já terem tomado a decisão, não especifica a resposta.

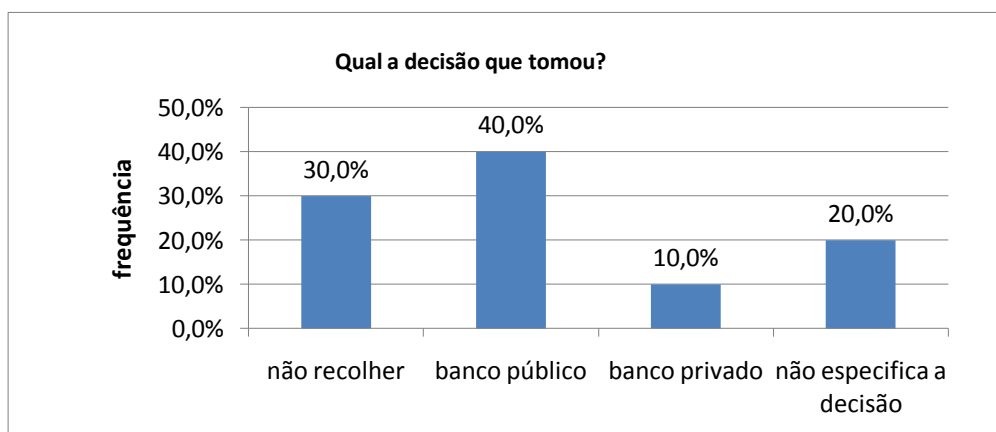


Figura 19- Distribuição das respostas à pergunta “Qual a decisão que tomou?” (n=46)

Quando pedimos às inquiridas para assinalarem de entre as doenças sugeridas quais aquelas em que o tratamento das células estaminais do sangue do cordão umbilical já era efectivo a distribuição das respostas está disposta na figura 20.

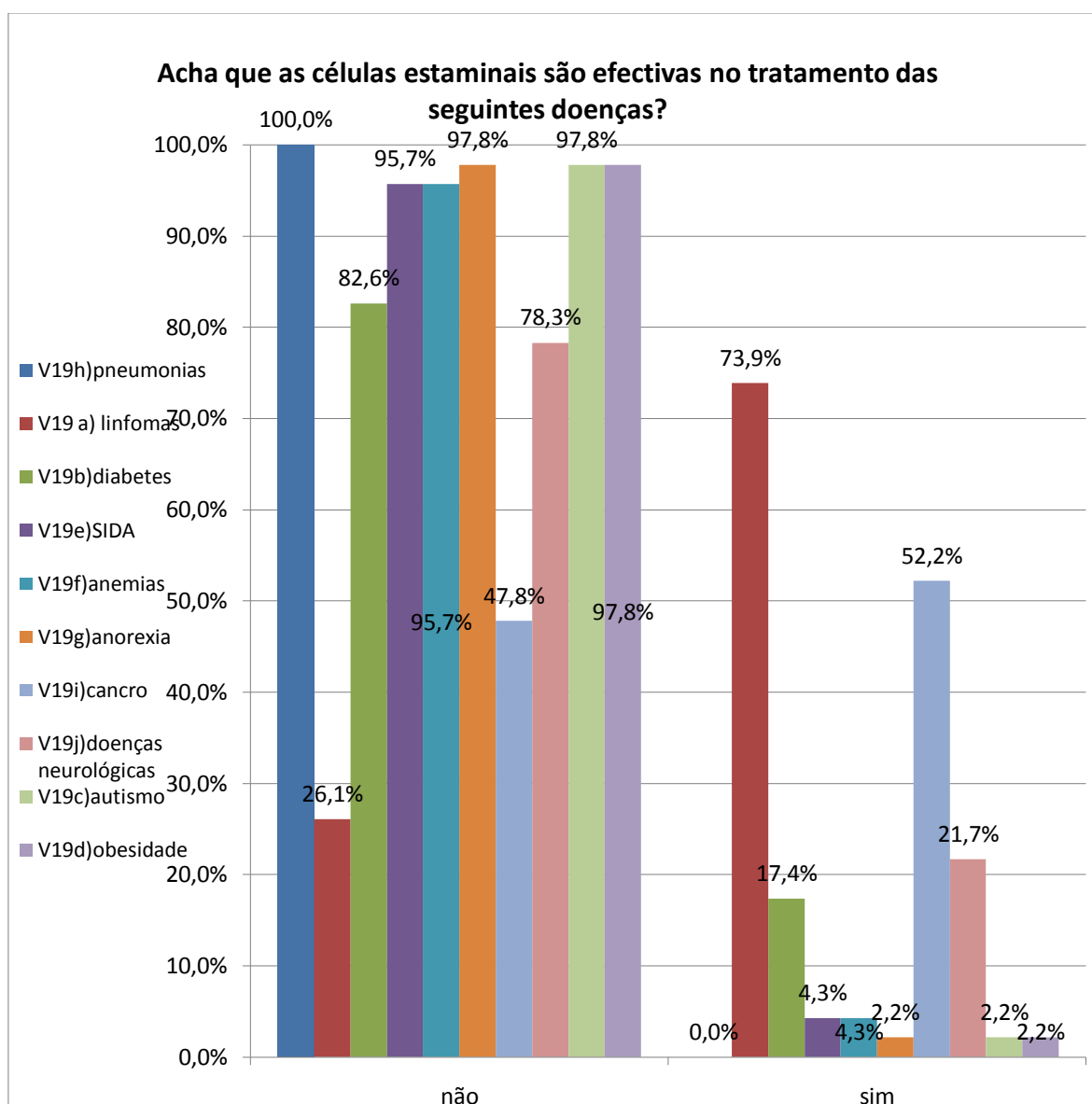


Figura 20- Distribuição das respostas das inquiridas quando confrontadas com algumas patologias para as quais o tratamento com as células estaminais já seria ou não efectiva (n=46).

Das doenças seleccionadas aquelas em que as inquiridas mais dizem ter um tratamento efectivo com células estaminais do sangue do cordão umbilical são os linfomas (73,9%), cancro (52,2%), doenças neurológicas (21,7%) e diabetes (14,4%). Todas as outras doenças apresentadas têm uma taxa de ocorrência de respostas afirmativas residual.

4ºCAPÍTULO

Discussão

A compreensão do contexto português no qual se encontra inserida a criopreservação das células estaminais mostrou-se a meta principal desta investigação. Com a elaboração do questionário a 48 grávidas que se deslocaram a consultas Externas de Obstetrícia da Maternidade Bissaya Barreto em Coimbra, escolhidas de forma aleatória no período entre Março e Junho de 2012 foi possível detalhar questões relacionadas com o conhecimento sobre as células estaminais do sangue do cordão umbilical.

Relativamente a um dos dados do perfil da amostra, a idade das inquiridas apresentou uma média±desvio padrão de $31,2\pm 3,9$ que acompanha a tendência de Portugal para uma maternidade cada vez mais tardia. As mulheres adiam a maternidade muito pela exigência profissional a que são sujeitas hoje em dia, e muito também pela situação económica vivenciada actualmente no nosso país. Através da análise dos dados do INE a média de idade das mães à data do nascimento do 1º filho no ano de 2011 foi de 30,9 anos. Este valor tem vindo a crescer desde 1990 onde as mulheres eram mães com uma idade média de 27,1 anos. Destas mulheres cerca de 77,1% iam ser mães pela primeira vez, o que apoia a ideia do decréscimo da taxa de natalidade bruta que está a ocorrer em Portugal, que à data é de 9,5%. Segundo o administrador de um dos Bancos Privados a laborar em Portugal, a diminuição da taxa de natalidade e a presente conjuntura económica poderão deixar as empresas de criopreservação em situações complexas [56]. As inquiridas que seriam mães pela primeira vez não recorreram a nenhum serviço de criopreservação até então para recolha e preservação de células estaminais.

Da análise dos dados é possível afirmar que a proveniência das mulheres que recorrem à Maternidade Bissaya Barreto é diversificada sendo na nossa amostra a maioria oriunda de localidades dos arredores ou fora de Coimbra (58,7%) e a restante população (41,3%) proveniente de Coimbra. Em termos profissionais, foram registadas profissões bastante distintas daí ter-se agrupado os dados por classes para facilitar a análise de dados: trabalhadoras em áreas da saúde, áreas distintas da saúde, desempregadas e estudantes.

Os factores socioeconómicos podem ser base da decisão da recolha ou não das células estaminais e em que circunstâncias. Em primeiro lugar, a proveniência das mulheres (se meios urbanos ou rurais) que se traduz em gestações seguidas em diferentes instituições,

pode ser preponderante na informação que recolhe sobre este tema. Os estímulos publicitários que recebem ao nível das instituições de saúde onde são seguidas e das farmácias locais (panfletos informativos dos laboratórios) e a própria informação que os profissionais de saúde que as acompanham na gravidez estão desportos para lhe facultar também poderá ser diferente dependendo da área geográfica a que pertencem.

Em segundo lugar, os factores económicos, que podem estar directamente relacionados com a profissão que exercem, também podem ser importantes na tomada de decisão, uma vez que o processo de recolha e criopreservação nas instituições privadas apresenta valores entre os 1000 e os 2000 euros dependendo do tipo de serviço e da instituição que se escolhe para realizar o processo.

Dinç H. et al num estudo realizado em Istambul (2009) revelam que uma grande percentagem de mulheres antes de engravidar já teria tido contacto com alguma informação desta temática através de jornais, internet e televisão ainda que de forma não intencional. Estas grávidas esperariam que fossem os Obstetras e Enfermeiros a facultarem-lhe a informação que precisariam.

Actualmente em Portugal existe também alguma informação, mas nas farmácias comunitárias os pais questionam frequentemente os farmacêuticos sobre esta temática, em especial quando confrontados com a publicidade das empresas privadas nos dos meios de comunicação e ainda em revistas e panfletos nos consultórios médicos e instituições de saúde (hospitais, centros de saúde, maternidades). O tipo de instituição onde são seguidas na gravidez, apesar de não ter sido um dos aspectos avaliados no questionário, (Clínicas Privadas, Maternidade Pública ou Unidades de Saúde Familiares) também pode ter influência directa no grau de informação que as mulheres apresentam.

As medidas de redução de custos impostas no âmbito da Saúde, que passam pela diminuição de pessoal das equipas Médicas e de Enfermagem e extinção de várias maternidades centralizando os serviços, podem afectar a qualidade da prestação de serviços nas Instituições de Saúde públicas O facto de nas visitas programadas à Maternidade, a grávida não ser sempre consultada pelo mesmo Médico ou equipa de Enfermagem, dificulta a criação de um ambiente de empatia e confiança para se abordar questões que saiam do âmbito dos aspectos práticos da consulta. Destes factores pode incorrer a lacuna informativa que ainda

se faz notar na população de mulheres grávidas acerca das células estaminais do sangue do cordão umbilical.

Das consultas de obstetria/ginecologia em Médicos a laborar no sector privado, onde é maior a disponibilidade temporal do especialista para com o utente e maior a propensão para se gerar uma relação de confiança/empatia, poderão surgir grávidas mais informadas. São mais facilmente abordadas temáticas que possam estar implícitas a este período de gestação como é o caso da recolha e preservação das células estaminais do sangue do cordão umbilical.

O facto de serem seguidas numa Maternidade em detrimento de uma Unidade de Saúde Familiar também pode influenciar o grau de informação das utentes. Nas Maternidades, apesar da falta de recursos humanos e materiais que se experiencia à data, há prestação de cuidados especializados de obstetria e ginecologia e consultas frequentes durante o período de gestação. Há também um maior contacto com informação escrita (panfletos informativos) que facilita a chegada da informação às futuras mães. Quando existe um distanciamento geográfico da Maternidade Central e apenas acontece um seguimento da gestação na Unidade de Saúde Familiar a que pertencem, com um acompanhamento por equipas menos especializadas, é natural que não seja tão fácil a chegada da informação à mulher grávida. O Farmacêutico Comunitário pode, nestes casos, ter um papel preponderante na informação destas mulheres. É um profissional de Saúde Pública, capacitado para o poder fazer e disponível, em qualquer altura, sem necessidade de marcação prévia de consulta e sem necessidade de haver uma remuneração.

Nas maternidades, para as grávidas que se disponibilizam a frequentar as aulas de preparação para o parto, a recolha e criopreservação das células estaminais do sangue do cordão umbilical é actualmente um dos temas apresentado. Contudo, a informação chega geralmente por um representante de empresas privadas de criopreservação, não havendo uma informação imparcial e desprovida de interesse comercial, a informação veiculada funciona muitas vezes como mais um meio publicitário.

A instituição e os profissionais de saúde que acompanham a mulher ao longo da gestação podem ser preponderantes na informação que esta apresenta sobre as células estaminais.

A informação sobre o Banco público e o seu *modus operandi* é ainda muito escassa e a que causa mais dúvidas na população.

Daqui deduzimos que a informação poderá não chegar a todas as mulheres da mesma maneira, dependendo da instituição e dos profissionais de saúde onde são acompanhadas e da sua área de residência. Da nossa amostra, a percentagem de mulheres que responderam saber o que são células estaminais do sangue do cordão umbilical é de 52,10%, sendo as que responderam não saber 4,10%. O número de mulheres que refere saber Vagamente o que são as células estaminais do sangue do cordão umbilical é de 43,80%. Sendo que os 4,10% das respondentes que afirmou não saber o que são células estaminais pertencem ao grupo de mulheres que não é oriunda de Coimbra, não desempenha qualquer actividade profissional na área da Saúde e encontra-se no período gestacional abaixo das 25 semanas.

Tendo em atenção que as mulheres respondentes ao inquérito se encontram maioritariamente no último trimestre de gestação, sendo que 52,1% entre as 30 e 35 semanas de gestação e 29,2% após as 35 semanas, deviam estas grávidas já ter recebido toda a informação necessária para poderem tomar a decisão da recolha ou não das células do sangue do cordão umbilical dos seus filhos e em que condições.

Relativamente a alguns aspectos práticos do processo como seja a altura da gestação em que os futuros pais têm que tomar a decisão do que fazer com as células estaminais do sangue do cordão umbilical dos seus bebés, a percentagem de mulheres que afirma saber quando o fazer é de 63,2% sendo as que desconhece essa questão 13%. Parecem não estar totalmente esclarecidas cerca de 23,80%. A maioria das instituições de recolha aconselha os pais a fazer o pedido do serviço com 2 meses de antecedência, em relação à data prevista do parto.

No que respeita à recolha das células propriamente ditas, a maioria das gestantes da amostra parece ter conhecimento que o processo não é doloroso nem para a mãe nem para o bebé. De facto cerca de 89% responderam ter conhecimento desta questão em particular, contudo ainda existem mulheres que desconhecem que este é um processo indolor para as próprias e para os seus filhos (cerca de 4%) e algumas (cerca de 6,5%) que não têm certezas neste campo. Poderá ser importante desmistificar este aspecto, que pode ser uma barreira à criopreservação.

Em relação à utilização que poderá dar à amostra (se só pode ser utilizada uma vez ou várias) a população em estudo parece não estar esclarecida. A percentagem das utentes informadas é de 40% sendo as que desconhecem a resposta a esta pergunta é também 40%. Os restantes 20% da amostra parecem não ter certezas em relação a este aspecto em

particular. De facto as células estaminais armazenadas poderão ser utilizadas uma ou mais vezes, tendo em conta vários factores, nomeadamente, a massa corporal, o peso do doente, a gravidade da doença e estágio da mesma. O número de células que foi possível recolher e armazenar e a própria evolução da técnica são também determinantes no uso da amostra. Segundo vários artigos científicos, a taxa de sucesso de transplantes de sangue do cordão umbilical é mais elevada quando o transplante é efectuado com um maior número de células estaminais. No entanto, depende mais uma vez, do tipo de doença, da amostra e do protocolo clínico usado pelo centro de terapia. Futuramente prevê-se que seja possível proceder à expansão (multiplicação) destas células em laboratório [34,35,36].

Ainda em relação à utilização da amostra as respondentes mostram algum conhecimento no em relação à utilização por outros familiares do dador (73,3% assumem saber se as células podem ou não ser utilizadas por familiares do dador, sendo que 20% da amostra não tem conhecimento deste aspecto). De facto, dependendo da opção que os pais façam em relação às células estaminais dos seus filhos, se as recolhem e preservam num Banco Privado ou Público, as células poderão ou não ser utilizadas por familiares. Se o processo for realizado numa instituição privada, também denominadas em muitos países bancos familiares, há a possibilidade de um familiar poder usufruir do património celular criopreservado em caso de necessidade, com autorização do próprio dador ou dos pais, em caso do dador ser menor. Algumas instituições sugerem que a recolha em Bancos Privados só faz sentido para uso de familiares HLA compatíveis e não para o próprio dador [62,63].

Quando confrontadas com a duração do armazenamento da amostra, a percentagem de respostas que afirma ter conhecimento do período temporal foi de 63,2%, enquanto 13,0% revela não ter conhecimento e 23,8 % afirma saber vagamente. Esta distribuição revela que grande parte da amostra parece já ter recolhido informação sobre este item mas ainda à uma parte significativa da amostra que parece ter necessidade de uma maior clarificação deste parâmetro. Actualmente a maioria dos laboratórios privados de criopreservação no contrato efectuado com os pais estipula que a duração do armazenamento seja por 20-25 anos, prazo estipulado internacionalmente. A lei 12/2009 contempla a situação de cessação de actividade dos laboratórios (abrangendo-se aqui os casos de insolvência ou dissolução) e prevê nestes casos que ocorra transmissão da amostra e dos serviços contratados para outra instituição, nos termos autorizados pela ASST.

A amostra que inquirimos parece estar maioritariamente esclarecida sobre a existência de Bancos de recolha e criopreservação de células estaminais, e de facto 87% das mulheres grávidas inquiridas afirma conhecer instituições que executam estes procedimentos, contudo apenas cerca de 76% afirma saber da existência de um Banco Público. Há ainda uma parte significativa da amostra que não sabe da existência do Lusocord. A co-existência de bancos públicos e privados de criopreservação de células estaminais de sangue do cordão umbilical é uma realidade na maioria dos países desenvolvidos e Portugal não é excepção. Os pais podem optar por guardar as células estaminais do sangue do cordão umbilical dos seus filhos num banco privado de uso familiar, em que a propriedade da amostra se mantém na família pelo período de tempo acordado, ou no banco público onde fazem uma doação e a amostra deixa de ser propriedade do dador.

A falta de conhecimento da existência de um Banco Público em Portugal, pode, na falta de meios económicos, resultar na não recolha das células estaminais do sangue do cordão umbilical. Deste desconhecimento nasce o desperdício de dádivas que de outro modo poderiam ser aproveitadas para investigação ou para utilização por um dador compatível.

De um modo geral, este estudo sugere que as grávidas conhecem os custos económicos que podem estar envolvidos na opção pela recolha das células nos Bancos Privados (78% tem consciência dos valores envolvidos, enquanto apenas 8,7% da amostra desconhece os valores). O valor dos serviços praticados nos Bancos Privados, dada a conjuntura actual económica do país, não está certamente ao alcance de todos os pais. E este é um aspecto que levanta várias questões éticas, nomeadamente o princípio da igualdade da população aos serviços.

Em Itália, a recolha de amostras para uso autólogo foi proibida. E os pais italianos optam por exportar as células dos seus filhos para criopreservar noutros países, nomeadamente em Portugal.

O armazenamento em Bancos Privados tem sido contestado por várias organizações Mundiais, exemplo disso são a American Academy of Pediatrics e American College of Obstetricians and Gynecologists. Um relatório recente da União Europeia destacou sérias preocupações éticas sobre os bancos privados de células estaminais do sangue do cordão umbilical e questionou sua legitimidade na venda dos serviços. O Grupo Europeu para a Ética, Ciência e Novas Tecnologias estipulou que a doação de tecidos deve ser livre, altruísta

e baseada no princípio da solidariedade, o dador não deve ser considerado um objecto fonte de órgãos ou tecidos mas sim uma pessoa [31]. A American Academy of Pediatrics desencoraja os pais a fazerem a recolha no banco privado alegando uma baixa possibilidade de aplicação das células estaminais para uso autólogo [31,63]. Esta entidade refere que os pais são sujeitos a grandes pressões e manipulação por parte dos Bancos Privados, tirando partido da situação emocional que a nascença de um filho gera.

De facto, este é um assunto que gera grande discussão e controvérsia. No nosso país a escolha é da responsabilidade dos pais, não impondo a nossa legislação qualquer obstáculo à recolha das células nos Bancos Privados. As estratégias publicitárias que estes Bancos utilizam na promoção dos seus serviços, sempre com uma carga emocional forte e uso de figuras públicas nos meios de comunicação, bem como a implementação de facilidades no pagamento do serviço são factores que favorecem a opção de muitos pais por este tipo de serviços.

A amostra que foi alvo deste estudo parece não ter conhecimento completo das diferenças entre Bancos Público e Privados, apenas 50% das mulheres dizem saber o que distingue os dois tipos de bancos, sendo a percentagem que apresenta dúvidas nas diferenças é de 34,8% e a percentagem de utente que não tem conhecimento deste aspecto é de 15,2%. Nestas 15.2% que não tem conhecimento das diferenças entre os dois tipos de Bancos estão incluídas 2 profissionais da área da saúde. Contudo a maioria trabalha noutras áreas profissionais.

Relativamente a um aspecto prático do funcionamento dos Bancos que pode limitar a concretização do processo correctamente (dias da semana a que os bancos funcionam) a maioria das respondentes (52,2%) não tem essa informação. 37% da amostra já possui esse conhecimento, sendo que 10,8% da amostra refere saber vagamente. A maioria das instituições assegura a entrega e a recolha dos kits 7 dias por semana. A recolha do Kit para processamento e criopreservação é efectuada durante qualquer dia da semana, efectuada por profissionais devidamente identificados ou por uma transportadora, de modo a garantir o cumprimento dos prazos de recolha. Estas preocupações visam garantir a preservação e a qualidade da amostra. Da hora da colheita aquando do parto à chegada do laboratório para ser tratada não devem passar mais de 48 horas.

No que diz respeito à decisão final das mulheres em relação ao que fazer com as células estaminais do sangue do cordão umbilical dos seus bebés 65,2% refere já ter tomado a decisão e 34,8% revelam ainda não o ter feito. Das mulheres que tomaram a decisão, 30% optam por não fazer a recolha, 40% diz recolher no banco público, apenas 10% refere fazê-lo em Bancos Privados e 20 % das mulheres apesar de já ter tomado a decisão não especifica qual. A distribuição das grávidas com uma decisão tomada por semanas de gestação revela que é numa fase mais tardia da gravidez que as mulheres decidem o que fazer com as CESCU. Essa decisão é tomada maioritariamente entre as 30 e 35 semanas de gestação (66,7%). Na análise, 30% das inquiridas que sabe o que fazer com as CESCU dos seus filhos está além das 35 semanas de gestação e apenas 13% das grávidas está antes das 30 semanas. As aulas de preparação para o parto a decorrer nas maternidades, onde as CESCU são uma das temáticas abordadas, começam normalmente quando as grávidas se encontram perto das 30 semanas de gestação. Assim, a tomada de decisão pode ter relação com a aquisição de conhecimentos nessas aulas ou simplesmente porque já se encontram numa fase da gravidez em que têm que ter já convicção do que fazer com as CESCU dada a aproximação temporal ao parto.

São as mulheres que trabalham na área da saúde as que mais optam por criopreservar as CESCU no banco privado (6.6% em 10%). Das que optam por fazer a doação para o banco público, apenas 8.3% das 40% laboram na área da saúde e das que optam por não fazer a recolha, não há mulheres a laborar na área da saúde. Assim, parece ocorrer uma tendência para as trabalhadoras da área da saúde optarem pelos serviços dos bancos privado. Isto pode incorrer do facto destas profissionais estarem mais sujeitas à publicidade das empresas privadas nas instituições de saúde. Pode também derivar do facto destas terem situações económicas mais estáveis, que permitem optar pela realização da criopreservação mediada por uma instituição privada.

Da distribuição obtida nota-se ainda uma tendência para a não realização da criopreservação. Este comportamento pode incorrer da falta de informação prestada às grávidas sobre os aspectos que parecem desconhecer deste processo. Os custos avultados inerentes à adesão do serviço nos Bancos Privados, a baixa aplicabilidade das células estaminais do sangue do cordão umbilical actualmente e o desconhecimento da existência do Banco Público, bem como das suas características parecem ser os factores determinantes para esta escolha. É

então evidente que nesta fase que há uma clara tendência para não recolher as células ou recolhê-las no banco público presumivelmente pela conjuntura económica que se vive no nosso país ou pelo conhecimento dos usos limitados das células estaminais no presente para benefício do próprio dador

Num estudo realizado por Perlow et al (2006) nos Estados Unidos da América em quatrocentos e vinte e cinco grávidas 37% não tinham conhecimento da existência da recolha e criopreservação do cordão umbilical. As grávidas numa faixa etária mais elevada e aquelas com maior grau de escolaridade foram as que apresentaram maior conhecimento no tema. Das pacientes que indicam familiaridade com o assunto, 2,6% sentiu-se "extremamente experientes", enquanto 74% sentiram-se "minimamente informadas." 71% das pacientes não planeavam a recolha e criopreservação do sangue do cordão umbilical sendo a "despesa" e o "insuficiente conhecimento" como as principais razões citadas. Apenas 14% das pacientes foram instruídas sobre as células estaminais do cordão umbilical pelos enfermeiros ou obstetras, embora 90% das pacientes esperavam que fosse o seu obstetra a responder às suas perguntas este tema.

Katz et al (2011) mostram que, num estudo realizado em 5 países europeus (França, Alemanha, Itália, Espanha e Inglaterra) em 6 maternidades diferentes, 79% (n=1620) de mulheres grávidas apresenta pouco conhecimento sobre os bancos de recolha. Um total de 58% já teria ouvido falar dos benefícios terapêuticos do cordão umbilical e 21% das mulheres teriam recebido informação por parte dos obstetras. E 89% das inquiridas optou por recolher o cordão umbilical sendo que dessas, 76% doará para um Banco Público e 13% para fará a recolha para um Banco privado.

Suen et al (2011) num estudo com 2000 mulheres em Hong Kong mostra que a maioria (78%) das participantes não sabia da possibilidade da recolha para uso próprio (banco familiar). Além disso, a maioria das entrevistadas desconhecia quais as doenças passíveis de tratamento com as células estaminais do cordão umbilical além das leucemias.

Relativamente às doenças para as quais as células estaminais do sangue do cordão umbilical à data já mostraram ser efectivas e que constavam no questionário (anemias, linfomas e outros cancros), a nossa amostra, no geral mostra ter conhecimento. Ainda assim, há doenças cuja aplicação das CESCUs actualmente se limita à fase de ensaios clínicos e que uma percentagem

significativa das inquiridas pensa já ser usada na prática clínica (caso da diabetes tipo I e doenças neurológicas).

Fernandez et al (2003) num questionário realizado a 443 mulheres grávidas mostrava que cerca de 70% das inquiridas possuía pouco conhecimento acerca dos Bancos de Sangue do Cordão Umbilical. A maioria da amostra, 68%, esperava que fossem os profissionais de saúde que as acompanhavam na gravidez ou nas aulas de preparação para o parto a prestar-lhes a informação acerca da recolha do sangue do cordão umbilical. A maioria das mulheres (83%) afirmara que as grávidas deveriam ser confrontadas com a opção da recolha/criopreservação das células do sangue do cordão umbilical até às 30 semanas de gestação. Quando confrontadas com o que iriam fazer ao sangue do cordão umbilical dos seus filhos, 86% afirmaram doar para o Banco Público e 14% para o Banco privado. As razões invocadas para as escolhas do Banco Público foram: a possibilidade das CESCUs poderem ajudar outras pessoas; o Banco Privado ser demasiado dispendioso; a baixa probabilidade do uso autólogos; dúvidas na regulamentação dos Bancos Privados. Por outro lado as razões na base da opção pelos Bancos privados foram as seguintes: ser um bom investimento no caso da criança necessitar; sentimento de culpa no caso de não recolher no Banco Privado e a criança poder vir a precisar de um transplante autólogos; o custo do serviço ser aceitável; a possibilidade do cordão umbilical poder ser usado noutros propósitos que não a transplantação.

5ºCAPÍTULO

Conclusão

O Sangue do cordão umbilical é hoje uma fonte importante de células estaminais para transplantação apresentando diversas vantagens relativamente a outras fontes como a medula óssea ou o sangue periférico. As crianças poderão beneficiar mais com a terapêutica com estas células dado o pequeno volume da amostra recolhido aquando do parto. É nos transplantes alogénicos que actualmente as CESCUs apresentam maior aplicabilidade, especialmente em doenças hematológicas, linfomas e leucemias, doenças metabólicas e doenças auto-imunes. Vários ensaios clínicos ocorrem em todo o Mundo para alargar o âmbito da aplicação destas células à medicina regenerativa, com resultados promissores, no entanto, ainda longe da sua aplicação na prática clínica. O armazenamento por longos períodos de tempo das CESCUs, para a eventual utilização, só é possível recorrendo à criopreservação. Enquanto os Bancos Públicos de criopreservação preconizam a dádiva do sangue do cordão umbilical de uma forma altruísta, dado que a sua utilização autóloga é presentemente muito limitada, os Bancos Privados publicitam os seus serviços como um “seguro de saúde” que os pais não podem desperdiçar. Em Portugal, à data, os Bancos Privados parecem ter estagnado a sua actividade, dada a tendência para a redução da natalidade e as diversas dificuldades económicas por que passa o nosso país, já que a opção pela recolha e preservação das CESCUs nas instituições privadas podem chegar perto dos 2000 euros.

Este estudo sugere que as mulheres não estão ainda suficientemente informadas acerca das CESCUs e dos aspectos relacionados com a sua recolha e criopreservação. Também a existência dos dois tipos de Bancos que realizam este serviço não é ainda do conhecimento geral. Apesar da publicidade existente em vários meios de comunicação continuam ainda a existir mulheres que não sabem o que são as células estaminais do sangue do cordão umbilical. A transmissão de informação deve acontecer nas instituições que acompanham a mulher grávida no seu processo de gestação. A falta de informação nesta área leva ao desperdício de várias amostras de sangue do cordão umbilical. As pessoas que por várias razões não aderem ao serviço no privado podem doar o sangue do cordão umbilical dos seus filhos para o banco público e isso não acontece, muitas vezes por falta de conhecimento. Verificou-se que uma parte significativa da amostra opta por não recolher as CESCUs. Estas amostras poderiam contribuir para o desenvolvimento da investigação científica nesta área bem como para a utilização terapêutica em alguém compatível com o

dador. Este estudo denota uma clara tendência pela recolha e criopreservação das CÉSCU no Banco Público, sendo as grávidas que optam pelos Bancos Privados uma pequena minoria.

Muito trabalho há a fazer pelos profissionais de saúde para que as futuras mães possam ser esclarecidas em todos os aspectos do processo da recolha e criopreservação das células estaminais do sangue do cordão umbilical; deste modo podem estes profissionais contribuir para que os pais que optem por não realizar a criopreservação nos Bancos Privados o façam no Lusocord. Colabora-se assim para o aumento do número de amostras registado neste banco e para a probabilidade de ser mais fácil encontrar-se um dador compatível para transplantes alogénicos.

BIBLIOGRAFIA

- [1] **Viaro, M.E.** (2004) *Por detrás das Palavras, Manual de Etimologia do Português*. 1ª Publicação da obra. Editora Globo
- [2] **Welniak et al** (2007) *Immunobiology of Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation*, 25:139-170
- [3] <http://stemcells.nih.gov/info/> acedido em Junho de 2012
- [4] **Hassan Abdulrazzak et al** (2010) *Biological Characteristics Of Stem Cells from Foetal, cord blood and extraembryonic tissues*. JR.Soc. Interface, 7:689-706
- [5] **S.Eridani MD(2002)** *Stem cells for all seasons? Experimental and clinical issues*, Journal of Royal Society Medicine, 95:5-8
- [6] **Maria Helena Souza e Decio Elias**(2007) *As células tronco e o seu potencial na reparação de órgãos e tecidos*.
- [7] **Zhao Yong et al**(2006) *Identification of stem cells from human umbilical cord blood with embryonic and hematopoietic characteristics*, Elsevier volume 312:13 -2454-2464
- [8] **Hofmeister CC et al** (2007) *Ex-vivo Expansion of Umbilical Cord Blood Stem Cells for Transplantation growing knowledge from the hematopoietic niche*,39:11-23
- [9] **Charles J. Hunt** (2011) *Cryopreservation of Human Stem Cells for Clinical Application: A Review*, 38(2)107-123
- [10] **Covas, D.T,Zago,M.A** (2006) *Células Tronco-Nova Fronteira da Medicina*,1ªEdição, Ateneu Editora 268
- [11] **Manuila, L , Manuila, A, Lewale,P e Nicoulin, M**(2003) *Dicionário Médico*, Tradução de ALMEIDA, J.NReimprensão, Climepsi Editores, Lisboa, 863
- [12] **Stein, G.S et al** (2011) *Human Stem cell, Technology and Biology* 1ªedição Wiley-Blackell USA 420
- [13] **Lapouge, G., Blanplain, C.** - *Medical applications of epidermal stem cells*. StemBook. (2008), 1-10.

- [14] **Can, Alp** - *A concise review on the classification and nomenclature of stem cell.* Turk J Hemato. 25, (2008), 57-59.
- [15] **YAMANAKA, Shinya** - *Strategies and New Developments in the Generation of Patient-Specific Pluripotent Stem Cells.* Cell Stem Cell. 1, 1 (2007), 39-49.
- [16] **Liras Antonio** (2010) *Future research and therapeutic applications of human stem cells: general, regulatory, and bioethical aspects,* Journal of Translational Medicine, 8:131
- [17] **Ju-Yeon Kim et al** (2010) *Application of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells in disease models,* World J Stem Cells 2(2):38
- [18] **Malgieri Arianna et al** (2010) *Bone marrow and umbilical cord blood human mesenchymal stem cells:state of the art* Intj Clin Exp Med 3(4):248-269
- [19] **Bryder, D et al** (2006) *Hematopoietic Stem Cells: the paradigm tissue-specific stem cell.* Am J Pathol, 169:338-346
- [20] **Trounson, A. et al** (2011) *al Clinical trials for stem cell therapies* BMC Medicine 2011, 9:52
- [21] **Silva Junior F, C et al** (2009) *Células Tronco Hematopoiéticas: utilidades e perspectivas* Ver. Bras. Hematol. 31:53-58
- [22] **National Institutes of Health-U.S.** Department of Health and Human Services: Stem Cells Basics
- [23] **Smith Angela R** (2009) *Alternative Hematopoietic Stem Cell Sources for Transplantation: place of umbilical cord blood,* Br J Haematol 147 (2): 246-261
- [24] **Delaney et al** (2010) *Strategies to enhance umbilical cord blood stem cell engraftment in adult patients,* Expert Rev Hematol 3 (3): 273–283.
- [25] <http://www.corblood.com>
- [26] **Berz, David et al** *Cryopreservation of Hematopoietic Stem Cells* Am J Hematol, 82(6): 463–472
- [27] **Cardoso, C, et al** (2009) *Colheita, armazenamento e aplicações clínicas das células estaminais do Sangue do Cordão umbilical;* Revista da Associação Portuguesa dos Enfermeiros Obstetras, nº10

- [28]**Reimen Verena et al** (2009) *Stem cells derived from cord blood in transplantation and regenerative medicine*, *DeustchArzteblatt International* 106(50):831-836
- [29]**Valerie I. Jorers , Marina .E. Emborg** (2009)*Preclinical assesement of stem cell therapies for neurological diseases* *ILAR J* 51(1):24-41
- [30]**Haller J Michael** (2008) *Autologous Umbilical Cord Blood Infusion for Type I Diabetes*, *Exp Hematol.* 36(6):710-715
- [31] **Matos, T , Vieira M ,Gomes A** (2010) *Criopreservação de células estaminais do sangue do cordão umbilical : utilização actual e potencialidades em medicina regenrativa*; *Patient Care* Vol 14, 147
- [32]**Gluckman E. et al**(2011) *Family-directed umbilical cord banking*, *Ferrata Storti Fondation, haematologica* 96(11):1700-1707
- [33] **Serrano Delgado et all** (2009) *Ethical issues to the Banking of umbilical cord blood in Mexico*, *BMC Medical Ethics* 10:12, 1-8
- [34]<http://www.criestaminal.com>,acedido pela última vez em Agosto de 2012
- [35]<http://www.bebevida.com>,acedido pela última vez em Agosto de 2012
- [36]<http://www.cytothera.pt>, acedido pela última vez em Agosto de 2012
- [37]<http://www.criobaby.pt>, acedido pela última vez em Agosto de 2012
- [38]<http://www.futurehealthbiobank.pt>, acedido pela última vez em Agosto de 2012
- [39]<http://www.criovida.pt> acedido pela última vez em Agosto de 2012
- [40]<http://www.bioteca.pt>, acedido pela última vez em Agosto de 2012
- [41][http:// www.chnorte.min-saude.pt/lusocord.php](http://www.chnorte.min-saude.pt/lusocord.php) ,acedido pela última vez em Agosto de 2012
- [42]**Elchalal et al** (2000) *Postpartum umbilical cord blood colection for transplantation: a comparision of three methods*, *Am J Obstet Gynecol* 182(1):227-232

- [43] **Charles J. Hunt (2011)** *Cryopreservation of human stem cells for clinical application: a review*, *Transfus Med Hemother*, 38:107-123
- [44] **Djuwantono Tono et al(2011)** *A comparison of cryopreservation methods: slow- cooling Vs rapid- cooling based on viability, oxidative stress, apoptosis and CD34+ enumeration of human umbilical cord blood mononucleated cells*, *BMC Research Notes* 4:371
- [45]**Son JH et al(2010)** *optimization of cryopreservation condition for hematopoietic stem cells from umbilical cord blood*, *cryobiology* 60(3)287:292
- [46]**Wang HY et al(2011)** *Cryopreservation of umbilical cord blood derived mesenchymal stem cells without dimethyl sulfoxide*; *Cryoletters*, 32(1)81-88
- [47]**Nicoud IB et al (2012)** *Cryopreservation of umbilical cord blood with a novel freezing solution that mimics intracellular ionic composition*, *Transfusion*, 10: 1537-1545
- [48]**Kiatpongsan S(2008)**, *Business on hope: a case study on private cord blood stem cell banking*, *J Med Assoc Thai* 91(4):577-580
- [49]**Mckenna D, Sheth J (2011)** *Umbilical cord blood & promise for the future*, *Indian J Med* 134(3) :261-269
- [50] **Alkindi Salam (2011)** *umbilical cord blood banking and transplantation*, *SQU Med J* vol11 (4):455-461
- [51]**Thornley Ian et al (2009)** *Private Cord Blood Banking: Experiences and Views of Pediatric Hematopoietic Cell Transplantation Physicians*, *Pediatrics*, 123(3):1011-1017.
- [52]**Gassas A(2011)** *Cord stem-cell transplantation in Ontario: do we need a public bank?*, *Curr Oncol* 18(3)121-125
- [53]**Fernandez V. Conrad et al (2003)** *Knowledge and attitudes of pregnant women with regard to collection, testing and banking of cord blood stem cells*, *Canadian Medical Association*, 168(6):695-698
- [54]**Katz G et al (2011)** *Banking cord blood stem cells: attitude and Knowledge of pregnant women in five European Countries*, *Transfusion* 51(3):578-586

[55] **Dinç H** (2009) *Pregnant women's knowledge and attitudes about stem cells and cord blood banking*, Int Nurs Rev 56(2):250-256

[56] **Ana Isabel Cabo**, *Bancos de Células Estaminais- A falta de Legislação foi inadmissível*, Revista da Ordem dos Advogados, Fev 2012

[56] <http://www.dr e.pt>, acessido pela última vez em Setembro de 2012

[57] <http://www.netcord.org/> acessido pela última vez em Setembro de 2012

[58] <http://www.bmdw.org/> acessido pela última vez em Setembro de 2012

[59] <http://www.ine.pt/> acessido pela última vez em Agosto de 2012

[60] www.ordemfarmaceuticos.pt/ acessido em Julho de 2012

[61] <http://parentsguide.cordblood.org/> acessido pela última vez em Setembro de 2012

[62] http://www.midwifw.org/siteFiles/news/sharewithwomen53_2.pdf acessido pela última vez em Setembro de 2012

[63] <http://www.aap.org/advocacy/releases/jan07cordbloodfaq.htm> acessido pela última vez em Setembro de 2012

[64] <http://www.marow.org/> acessido pela última vez em Setembro de 2012

[65] <http://www.rndsystems.com> acessido pela última vez em Setembro de 2012

[66] **Moise Kj**(2005) *Umbilical Cord Stem Cells*, Obstet. Gynecol, 106:1393-1407

[67] http://www.criobase.com/cellule_staminali/Osservatorio%20sulle%20Banche%20Private%20del%20Cordone%20in%20Italia_Criobase.pdf acessido em Julho de 2012

ANEXOS:

Questionário

Consentimento Informado

CÉLULAS ESTAMINAIS DO SANGUE DO CORDÃO UMBILICAL

NOME:	IDADE:	Nº DE FILHOS:
PROFISSÃO:	SEMANAS DE GESTAÇÃO:	
MORADA:		

Sabe o que são as células do sangue do cordão umbilical?

SIM

VAGAMENTE

NÃO

Se respondeu SIM ou VAGAMENTE prossiga o questionário, se respondeu NÃO pode terminar.

Quais as doenças nas quais o tratamento com as células estaminais já é actualmente efetivo?

Linfomas Anemias

Diabetes Anorexia

Autismo Pneumonia

Obesidade Cancro

SIDA Doenças neurológicas

Sabe por quanto tempo são preservadas as células recolhidas na altura do parto? SIM NÃO VAGAMENTE

Sabe se a amostra recolhida em caso de necessidade pode ser usada mais que uma vez? SIM NÃO VAGAMENTE

Acha que a colheita das células na altura do parto é dolorosa para a mãe ou para o bebé? SIM NÃO VAGAMENTE

Sabe em que a altura da gravidez tem de tomar a decisão de recolher ou não as células estaminais do cordão umbilical do seu bebé? SIM NÃO VAGAMENTE

Conhece alguma empresa ou instituição de recolha e preservação destas células? SIM NÃO VAGAMENTE

As células podem ser usadas por outros familiares do dador? SIM NÃO VAGAMENTE

Sabe quanto pode custar aos pais a recolha e armazenamento destas células? SIM NÃO VAGAMENTE

Sabe da existência de algum Banco Público em Portugal? SIM NÃO VAGAMENTE

Sabe quais são as principais diferenças entre banco público e privado? SIM NÃO VAGAMENTE

Sabe se os laboratórios funcionam todos os dias da semana? SIM NÃO VAGAMENTE

Já tomou alguma decisão em relação à recolha das células do sangue do cordão umbilical do seu filho? SIM NÃO VAGAMENTE

Qual? _____

Obrigado pela sua colaboração

CONSENTIMENTO INFORMADO, LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO EM INVESTIGAÇÃO

Por favor, leia com atenção a seguinte informação. Se achar que algo está incorrecto ou que não está claro, não hesite em solicitar mais informações. Se concorda com a proposta que lhe foi feita, queira assinar este documento.

Título do estudo: Células Estaminais do Sangue do Cordão Umbilical - O Farmacêutico Informa

Enquadramento: No âmbito da Tese de Mestrado em Farmacologia Aplicada a decorrer da Faculdade de farmácia da Universidade de Coimbra, sob a orientação da Professora Doutora Cláudia Cavadas, eu Ana Sofia Fabrício pretendo realizar um inquérito a futuras mães de modo a testar os conhecimentos que têm ao nível da colheita, armazenamento e utilizações das células estaminais do sangue do cordão umbilical.

Explicação do estudo: Será preenchido um questionário de resposta rápida (sim, não e vagamente) composto por várias questões relacionadas com as células estaminais do sangue do cordão umbilical. A escolha das participantes é aleatória, serão entregues os questionários a grávidas que desloquem à Farmácia Garcia e Maternidade Bissaya Barreto.

Confidencialidade e anonimato: Os Dados dos questionários serão para uso exclusivo nesta Tese de Mestrado.

Assinatura/s:
.....

-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0-0-

Declaro ter lido e compreendido este documento, bem como as informações verbais que me foram fornecidas pela pessoa que acima assina. Foi-me garantida a possibilidade de, em qualquer altura, recusar participar neste estudo sem qualquer tipo de consequências. Desta forma, aceito participar neste estudo e permito a utilização dos dados que de forma voluntária forneço, confiando em que apenas serão utilizados para esta investigação e nas garantias de confidencialidade e anonimato que me são dadas pela investigadora.

Nome:

Assinatura:

Data: /..... /.....

ESTE DOCUMENTO É COMPOSTO DE 1 PÁGINA E FEITO EM DUPLICADO:

UMA VIA PARA O/A INVESTIGADOR/A, OUTRA PARA A PESSOA QUE CONSENTE