

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE
JOAQUIM VENÂNCIO

**MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
ESCOLA POLITÉCNICA DE SAÚDE JOAQUIM VENÂNCIO
LABORATÓRIO DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL TÉCNICA DE
NÍVEL MÉDIO EM LABORATÓRIO DE BIODIAGNÓSTICO EM
SAÚDE**

**POTENCIALIDADES DA APLICAÇÃO CLÍNICA DAS CÉLULAS-TRONCO
HEMATOPOÉTICAS E PERSPECTIVAS**

Andressa da Silva Mendonça

Orientadora: Monica Murito

Rio de Janeiro

2008

ANDRESSA DA SILVA MENDONÇA

**POTENCIALIDADES DA APLICAÇÃO CLÍNICA DAS CÉLULAS-TRONCO
HEMATOPOÉTICAS E PERSPECTIVAS**

Orientadora: Mônica Murito

Rio de Janeiro, 2008

Agradecimentos:

Agradeço a minha família por sempre me incentivar.

Aos meus amigos por sempre estarem comigo

A minha orientadora pela paciência

E agradeço a todos que interferiram direta e indiretamente na realização deste processo.

Muito obrigada!!

Epígrafe

Como filhos pródigos de um mesmo Pai,
que possamos usar essa herança divina com a
esperança de vermos caminharem junto,
RELIGIÃO, CIÊNCIA E LEI em benefício
da VIDA.

(Monica de Oliveira Souto)

Sumário

Introdução	6
Capítulo 1: Histórico e características das células-tronco.....	7
Capítulo 2: Células-tronco hematopoéticas.....	15
2.1 – Hematopoese.....	15
2.2 – Diferenciação celular.....	17
2.3 –Marcadores de superfície e identificação das células –tronco hematopoéticas	18
Capítulo 3: O transplante de célula-tronco hematopoética.....	20
Considerações finais	23
Referências bibliográficas	24

Introdução

Nos últimos anos as células tronco vem sendo cada vez mais abordado na área científica e na mídia devido a sua plasticidade, capacidade de diferenciação em várias células especializadas, de auto-regeneração e de reconstituição hematopoética sendo aplicadas na medicina regenerativa para a reconstrução de diferentes tecidos e também tem servido como um modelo de pesquisa, contribuindo para o aprofundamento dos estudos sobre os mecanismos por trás da diferenciação celular desenvolvimento embrionário e câncer entre outros.

As células-tronco podem ser divididas em: adultas e embrionárias. Estas últimas tem tido o seu estudo dificultado por questões de histocompatibilidade, segurança e ética. Entre as adultas, as células-tronco hematopoéticas são as mais conhecidas e as mais utilizadas clinicamente.

O objetivo desta revisão bibliográfica é relatar a importância das células-tronco hematopoéticas, considerando como principal aplicação clinica o transplante das células-tronco.

1 - Histórico e características das células-tronco

A crescente abordagem das células-tronco na área científica e na mídia tem ocorrido devido a capacidade de reconstituição hematopoética e, principalmente, a característica de plasticidade das células-tronco, que permite a diferenciação destas em células de diversos tecidos, tais como, fígado, sistema nervoso central, rins, pâncreas, pulmões, pele, trato gastrointestinal, coração, e músculo esquelético.(HERZOG et al.,2003).

As células-tronco são definidas como células não especializadas capazes de originar novas células-tronco, mantendo-se indiferenciadas, e de dar origem a células mais especializadas. São assim denominadas devido a sua comparação com um tronco de uma árvore que cresce de forma ascendente, formando mais troncos, e ao mesmo tempo enviando ramos e folhas para os lados.

As células-tronco apresentam duas características fundamentais que as diferenciam das outras células.

1)são células indiferenciadas e não especializadas que tem a capacidade de multiplicar-se por longos períodos mantendo-se indiferenciadas;

3)são capazes de se diferenciar em células especializadas gerando diferentes tipos celulares.

Quanto a divisão das células muitas descrições de divisão celular as classificam em simétrica e assimétrica. Na divisão simétrica a célula se divide dando origem a duas células-filhas idênticas a células-mãe que se parecem e se comportam como a célula que as originou. Que posteriormente podem se diferenciar dependendo dos sinais de

desenvolvimento e ambientais que recebem. A divisão assimétrica origina células que podem diferir quanto ao tamanho, forma, composição e função celular.

Segundo Lodish et al. (2005) a célula-tronco pode se dividir assimetricamente para gerar uma célula idêntica a ela e uma célula-tronco derivativa que tem capacidades mais restritivas, tais como se dividir por um período de tempo limitado ou dar origem a um menor número de tipos de celulares na progênie, em comparação a célula-tronco mãe.

As células-tronco podem ser classificadas quanto a sua origem como células-tronco adultas e embrionárias.

Em 1981 as células-tronco embrionárias foram descritas pela primeira vez, em camundongos. A partir de estudos realizados em 1970 nos quais descobriu-se que embriões de camundongos em estados iniciais de desenvolvimento frequentemente desenvolviam tumores, denominados teratocarcinomas ao serem retirados do útero e transplantados para um outro local e que as células presentes nele ao serem isoladas podiam crescer em cultura de tecidos e algumas células desse carcinoma embrionário ao serem injetadas em embriões de camundongos na fase de blastocisto e transplantados para uma mãe adotiva participavam do desenvolvimento normal do embrião. Gail Martin formulou a hipótese que mais tarde foi comprovada através de seus experimentos e do trabalho de Martin Evans e Matthew Kaufman (Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos, *Nature*, 1981, 292:154-156) de que essas células encontradas que formavam os teratocarcinomas eram células embrionárias normais que proliferavam de modo anormal, pois ao serem retiradas do útero e colocadas em outro local não recebiam os sinais corretos que induziam a sua diferenciação apropriada .

Assim tentando comprovar a sua hipótese Martin estabeleceu a primeira linhagem de células-tronco embrionárias. Primeiro cultivou as células de blastocistos de aproximadamente 30 embriões normais de camundongo, baseada na idéia de que as células presentes no teratocarcinoma eram derivadas das células-tronco embrionárias. Depois de uma semana em cultura as isolou em quatro colônias de células em desenvolvimento, estas células foram replicadas várias vezes e novas linhagens celulares puderam ser derivadas de maneira reprodutível.

Porém as células-tronco embrionárias humanas só foram isoladas em 1998, um ano após o anúncio do nascimento do primeiro ser clonado a partir de um ser adulto a ovelha Dolly, após um transplante em um oócito.

Esse método é chamado de transferência de núcleo somático ou clonagem, com esse método é possível criar uma célula pluripotencial a partir de uma célula adulta (=somática), ou seja, uma célula diferenciada. A técnica de transferência nuclear baseia-se na implantação de um núcleo de uma célula adulta que contenha o genoma desejado, em um óvulo anucleado.

A transferência de núcleo de células somáticas adultas para oócitos foi posteriormente utilizada para criar clones de várias espécies animais. Ramo que tem sido explorado e incentivado pelos criadores de animais, devido seus interesses particulares diante da capacidade desta técnica gerar indivíduos com características genéticas conhecidas o que pode aumentar eficiência produtiva de pequenos e médios criadores, oferecendo-lhes animais melhorados e geneticamente resistentes a doenças e a estresses diversos, entre outras possibilidades.

Os avanços obtidos na clonagem de animais levantaram as possibilidades da clonagem terapêutica. Neste procedimento as células obtidas, em princípio poderiam ser usadas para gerar tipos celulares adequados ao transplante, já que poderiam ser usadas células somáticas do próprio paciente evitando-se possíveis complicações quanto rejeição imune.

As células-tronco embrionárias são divididas em totipotentes e pluripotentes. Segundo Roberts(2006), nos embriões de mamíferos as primeiras oito células são totipotentes, ou seja, cada célula pode originar um novo embrião individualmente. Daí o nome: são células cuja capacidade de originar um novo embrião é total. Condição que torna possível o desenvolvimento de gêmeos idênticos a gravidez gemelar. Logo, estas células são capazes de originar qualquer tipo de tecido do organismo e dar origem a um novo organismo.

As células-tronco embrionárias pluripotentes são encontradas na fase inicial de formação do embrião, entre o 5º e 6º dia, nesta fase, o embrião é formado por um conjunto de aproximadamente 200 células e é denominado blastocisto. Neste período o embrião tem uma camada externa de células formadoras de tecido extra-embriônico chamada trofoectoderma que dará origem a alguns tecidos da placenta. E uma massa celular interna que vai dar origem aos tecidos do embrião. Essas células da massa celular interna podem ser retiradas e colocadas em placas de cultura. Em condições apropriadas elas podem manter-se indiferenciadas multiplicando-se por longos períodos, dando origem a uma linhagem de células-tronco embrionárias. Estas células foram derivadas pela primeira vez em 1981 a partir de embriões de camundongos e tem como característica principal sua pluripotência, ou seja, sua capacidade de originar diversos tipos celulares especializados.

Desde a década de 60, quando foram pela primeira vez, isoladas pelos cientistas canadenses Ernest Armstrong McCulloch e James Edgar Till, as células-tronco, são vistas como uma promessa de revolução na terapêutica médica. Terapias em caráter experimental realizadas no mundo inteiro apontam as células-tronco como eficientes no tratamento de doenças como Alzheimer, infarto do miocárdio, queimaduras, cardiopatias, doença de Parkinson, diabetes, lesões cervicais, esclerose múltipla, lúpus e várias outras.

No final da década de 1950 o cientista canadense James Edgar Till, junto com o cientista Ernest McCulloch, iniciaram um projeto de pesquisa, cujo qual mudou a forma de como as células-tronco eram vistas. Antes deste estudo havia uma preocupação quanto à morfologia destas células depois disso a principal ênfase nas pesquisas sobre células-tronco foi quanto a sua função. O que elas poderiam fazer?

O Doutor McCulloch fazendo um experimento com ratos irradiados que tinham recebido cerca de 10 à 100 mil células nucleadas da medula óssea, percebeu 10 dias depois durante a autopsia deles que haviam pequenos inchaços, formando blocos no baço destes animais, e que quanto mais células da medula óssea tivessem sido transplantadas maior o número de “blocos” eram observados. Então junto com o Dr. Till criaram a hipótese de que esses pequenos blocos seriam colônias de células derivadas das células individuais da medula óssea. O que foi comprovado e publicado em 1963 na revista científica Nature, o resultado de um estudo realizado em colaboração com o Dr. Andrew Becker que mostraram que aquelas colônias de células derivadas da medula, formadas no baço de ratos que receberam radiação pesada, eram clones derivados de células singulares. Esses clones continham mais de um tipo de célula formadora de

sangue diferenciada. Então, fortes evidências foram oferecidas, pela primeira vez, que a medula óssea do rato adulto contém células progenitoras multipotentes.

As células-tronco estudadas em 1963 foram as células-tronco hematopoiéticas ou hematopoéticas (*hemato* ou *hemo* significa sangue, *poiesis* significa fazer), células precursoras sanguíneas. Atualmente tem sido mostrado que todos os tipos celulares do sangue têm a sua origem em uma única célula pluripotencial.

As células-tronco adultas atuam na autorenovação de vários tecidos do organismo adulto incluindo o sangue, o intestino, a pele, os ovários e testículos, os músculos e o fígado participando da manutenção destes tecidos.

Nos organismos multicelulares após a fecundação as células do embrião sofrem sucessivas divisões para a formação de tecidos e órgãos funcionais do novo ser. Esta divisão depende em parte dos padrões específicos de divisão mitótica da célula.

Linhagem celular é a denominação da série de divisões celulares que ocorrem determinando progressivamente e restringindo o potencial de desenvolvimento da célula e a sua diferenciação em tipos celulares especializados. Essa diferenciação é controlada por fatores internos da célula, e por fatores externos como sinais célula-célula e fatores ambientais. Essa diferenciação culmina na formação de células definitivamente diferenciadas.

Algumas células após a sua diferenciação não são capazes de realizar a divisão celular e não podem ser substituídas se forem perdidas devido à morte celular ou lesão.

Outros tecidos possuem uma espécie de “reserva” de células-tronco que são acionadas quando o organismo precisa repor células maduras desgastadas ou quando ocorre uma lesão.

Células deste tipo são bem conhecidas, as células-tronco da pele, da mucosa intestinal, do epitélio olfativo, cérebro, fígado, gordura, córnea, retina, polpa dentária, pulmões, músculos esqueléticos e músculos cardíacos (Zago,2006).

O fato de existir células-tronco nestes tecidos não garante que quando lesado elas sejam capazes de reparar o dano.

Como exemplo temos os neurônios, células presentes no cérebro que quando lesadas não são substituídas.

Segundo Zago (2006), esse fato não se deve a ausência de células-tronco com potencial de diferenciação neuronal já que essas células são encontradas na zona subventricular do cérebro humano, sendo capazes de originar neurônios e células da glia, mas há uma considerável resistência do organismo em aceitar essas células nas redes neuronais maduras.

Por outro lado, as células do epitélio que reveste o intestino delgado são continuamente regeneradas a partir de uma população de células-tronco localizadas na base da parede intestinal em sulcos denominados cripta, em número de 4 a 6 em cada cripta. Experimentos demonstram que o tempo entre a origem da célula até a sua perda é de apenas cerca de dois a três dias. Essas células têm uma grande capacidade de divisão, podendo passar por mais de 1000 divisões. As células-tronco localizadas na cripta intestinal produzem células progenitoras que proliferam e se diferenciam a medida que ascendem para a borda das criptas, formando a camada superficial das vilosidades, através das quais ocorre a absorção intestinal. Então, um enorme número de células deve ser produzido constantemente para manter o epitélio intacto.

Estas células do epitélio intestinal podem ser classificadas como células-tronco adultas unipotentes e tecido específica, ou seja, são capazes de se diferenciar somente em células do tecido cujo qual são progenitoras.

Outro exemplo do papel das células-tronco na manutenção de populações de células diferenciadas esta na produção de células sanguíneas. Os vários tipos de células sanguíneas derivam de um único tipo de célula-tronco hematopoética pluripotente encontrada na medula óssea, no sangue da placenta e no sangue de adultos. A sua primeira diferenciação dá origem a duas células-tronco, linfóide e mielóide, com potencial mais restrito, pois apesar de serem capazes de realizar a auto-renovação elas estão comprometidas com uma das duas linhagens hematopoéticas principais.

2 – Células-tronco hematopoéticas

2.1) Hematopoese

A hematopoese, produção de sangue, é realizada no sistema hematopoético, constituído de células-tronco hematopoéticas, localizado na medula óssea sangue periférico e no cordão umbilical. O sistema hematopoético pode ser entendido como uma rede integrada de células, organizadas hierarquicamente que inicia seu ciclo de diferenciação com uma pequena população de células-tronco hematopoéticas, multipotentes que dão origem a todas as células do sangue e do sistema imune.

No homem durante o seu desenvolvimento a hematopoese ocorre seqüencialmente no saco vitelino, fígado fetal e na medula óssea adulta.

A partir do 16º dia de gestação na membrana do saco vitelino são encontradas células pluripotentes. A circulação delas é estabelecida a partir do 22º dia.

A partir da 5º ou 6º semana de gestação, acredita-se que há uma migração destas células para o tecido hepático, onde passa ocorrer a hematopoese. Em torno de nove semanas de gestação a hematopoese passa a ser extravascular, pois já esta bem estabelecida no fígado.

Em torno do 4º mês de gestação os espaços medulares, dentro dos ossos cartilagosos começam a ser formadas, por meio de um processo de reabsorção óssea. Então a hematopoese fetal entra na sua fase final. A partir do 8º mês de gestação até o nascimento há a formação da medula óssea adulta, através do preenchimento dos espaços medulares restantes.

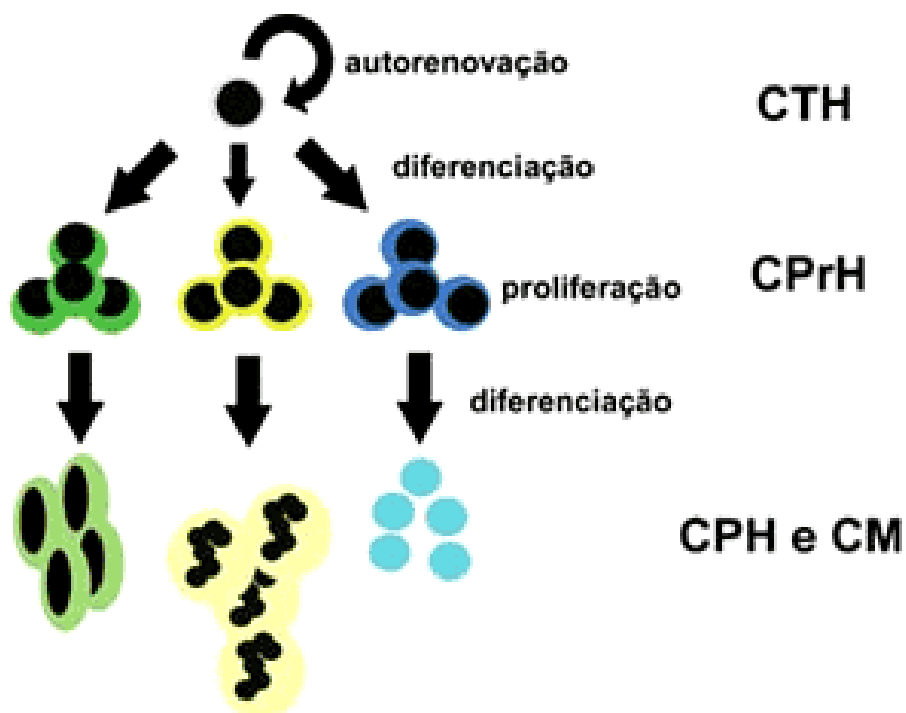
A célula-tronco hematopoética pode se dividir, simetricamente gerando duas células-filhas idênticas entre si e em relação a célula-mãe, para auto-renovação, ou se

dividir assimetricamente gerando uma célula-filha idêntica a célula- mãe que é pluripotente e outra que pode ser a célula-tronco mielóide e linfóide.

Estas células, mielóide e linfóide são denominadas células precursoras ou células progenitoras, que são células intermediárias, com potencial mais limitado do que a célula-tronco que a originou, para formar diferentes tipos de célula diferenciada. Por isso estão comprometidas com uma das duas linhagens hematopoéticas principais.

A linhagem celular mielóide inclui os eritrócitos, os megacariócitos, monócitos e granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos). A linhagem linfóide inclui os linfócitos B e T do sistema imune.

Mas o que leva a esta diferenciação?



2.2 – Diferenciação celular.

Os mecanismos que regulam o processo de diferenciação celular ainda são mal compreendidos. Porém sabe-se que este processo está sob controle de fatores internos e externos.

Numerosos fatores de crescimento, extracelular, denominados citocinas, regulam a proliferação e a diferenciação das células precursoras de várias linhagens de células sanguíneas (Lindosh, 2005).

Assim temos a interleucina 2(IL-2), que estimula a multiplicação dos linfócitos T; o fator estimulante das colônias de granulócitos e macrófagos(GM-SF) e a eritropoetina, originada nos rins. Segundo Lindosh (2005) a eritropoetina pode ativar várias vias de transdução de sinal intracelular diferentes, levando a alterações na expressão dos genes que promovem a formação de eritrócitos.

A especialização das células implica a síntese de proteínas específicas, como a hemoglobina nas hemácias, os anticorpos nos linfócitos entre outros. Assim em cada tipo celular são expressos um conjunto de genes distintos que serão responsáveis pelas características, daquela célula, diferentes daqueles expressos em outros tipos celulares.

A diferenciação das células não implica na perda de informações genéticas, assim todas as células do indivíduo possuem o mesmo patrimônio genético. Porém nem todos os genes estarão ativos. “Isso quer dizer que embora as células de diferentes tecidos sejam idênticas quanto ao DNA diferem quanto ao perfil de RNA e de proteínas (Zago et.al,2006)”

2.3 – Marcadores de superfície e identificação das células –tronco hematopoéticas

“Marcadores de superfície são moléculas biológicas embebidas ou apostas a superfície externa de todas as células. Estas moléculas funcionam como receptores celulares, permitindo que as células se comuniquem umas com as outras ou que se liguem especificamente a determinadas estruturas biológicas ou celulares. Estas moléculas que refletem a função celular podem também ser utilizada para efeito de marcação e identificação de tipos celulares, incluindo as células-tronco”.(Zago et.al.,2006).

Então todas as células inclusive as células-tronco possuem um conjunto de moléculas de superfície que são características, o que permite a sua identificação.

Para a identificação destas moléculas de superfície são utilizadas outras moléculas, que podem ser anticorpos que tenham afinidade com estes receptores, acoplados com substâncias marcadoras (fluorocromos ou enzimas) que vão ligar-se a elas, então qualquer célula que possua esta molécula na sua superfície será marcada e poderá ser identificada.O antígeno CD34 é o principal marcador das células-tronco hematopoéticas.

O método mais utilizado para a identificação das células-tronco hematopoéticas é a citometria de fluxo. O citômetro de fluxo identifica diferentes células medindo a luz que elas dispersam e a fluorescência que emitem quando o fluxo passa por um feixe de laser, podendo separar as células de um determinado tipo entre uma população de células (Lodish et al.,2005)

O citômetro de fluxo permite a passagem de uma célula por vez, dando a possibilidade de fazer a quantificação exata do número de células em análise.

Segundo Zago (2006), através desta técnica também é possível determinar as fases do ciclo celular em que se encontram as células, combinar a análise de mais de um marcador concomitantemente e determinar o conteúdo de RNA e DNA celular, bem como a densidade das moléculas de superfície e a complexidade celular interno.

3 – O transplante de célula-tronco hematopoética

O transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) consiste na infusão de células com a função de restabelecer a hematopoese no receptor. O TCTH é atualmente utilizado para o tratamento de diversas doenças neoplásicas (leucemia, linfomas, mieloma múltiplo) e não-neoplásicas (aplasia medular, hemoglobinopatias, distúrbios metabólicos ou doenças imunológicas congênitas e doenças auto-imunes. (Zago et al.,2006)

As células-tronco hematopoéticas são raras correspondendo a 0,05% a 0,5% total de células da medula óssea e do cordão umbilical, e bem menos no sangue periférico.

No transplante de células-tronco hematopoéticas (conhecida simplesmente como “transplante de medula óssea”) existem três fontes de células-tronco que são amplamente utilizadas atualmente: medula óssea, sangue periférico e sangue do cordão umbilical.

Apesar da medula óssea ser a fonte mais conhecida e utilizada de células-tronco hematopoéticas para o transplante, nos últimos anos nota-se que houve um aumento da utilização do sangue periférico e do sangue do cordão umbilical. Isso deve-se principalmente a dois fatores:

“1) A possibilidade de se utilizar os fatores de crescimento hematopoético (FCH) para a mobilização (transferência) das células-tronco hematopoéticas originárias da medula óssea para o sangue e a possibilidade de coletá-las por citaférese.

2) A demonstração de que o sangue do cordão umbilical, coletado no momento do nascimento e criopreservado, pode ser capaz, após descongelação, de reconstituir, a curto e em longo prazo, a hematopoese de um paciente” (Zago,2006).

O TCTH pode ser de três tipos singênico, autólogo ou alogênico.

O TCTH singênico é aquele no qual o doador e o receptor são irmãos gêmeos univitelinos, logo têm o mesmo patrimônio genético e não tem diferenças imunológicas herdadas.

No TCTH autólogo são utilizadas as células do próprio indivíduo.

No TCTH alogênico, as células para o tratamento derivam de um doador diferente do doador, que pode ser doador aparentado (em geral irmão) e doador não aparentado.

Os pacientes são preparados ou condicionados para o TCTH (transplante de células progenitoras hematopoéticas) com quimioterapia em altas doses associada ou não a radioterapia. O regime de condicionamento clássico provoca mieloblação, que permite criar espaço na cavidade da medula óssea, induz imunossupressão e trata a doença residual. Desde modo permite a enxertia das células progenitoras hematopoéticas transplantadas, que são responsáveis pela reconstituição da hematopoese que começa se revelar no sangue periférico de 2 a 3 semanas após a infusão das células.(Paton, 2000)

De um modo geral, segundo Voltarelli (2000) o uso de agentes quimioterápicos utilizados tem três funções básicas .

1-Destruir as células tumorais, ou outras células anormais, permitindo a cura da doença básica;

2-Criar espaços na medula óssea para permitir a enxertia das CTH transplantadas;

3-Destruir o sistema imunológico do recipiente, para a mesma finalidade.

Além das células-tronco hematopoéticas, serem o tipo de célula-tronco mais utilizada e reconhecida na medicina. Muito tem se pesquisado sobre a plasticidade destas células, ou seja, sua capacidade de se diferenciar em outros tipos celulares que não façam parte do sistema hematopoético, apontando a importância dos estudos feitos sobre este tipo celular.

A crescente abordagem das células-tronco na área científica e na mídia tem ocorrido devido à capacidade de reconstituição hematopoética e, principalmente, a característica de plasticidade das células-tronco, que permite a diferenciação destas células em diversos tecidos, tais como, fígado, sistema nervoso central, rins, pâncreas, pulmões, pele, trato gastrintestinal, coração e músculo esquelético(Herzog et al,2003).

Considerações finais:

Considerando os estudos atuais com células-tronco não há dúvidas de que as suas potencialidades são enormes, e pode-se esperar um novo tipo de Medicina a partir da evolução dessas pesquisas.

Porém as pesquisas com os diferentes tipos de células-tronco deve ser acompanhada com entusiasmo e cautela. Como a maioria das grandes novidades, esta área está sendo superestimada se for considerada a realidade atual.

As células-tronco hematopoéticas apresentam os resultados mais expressivos nas pesquisas, exemplificado no sucesso dos transplantes de medula óssea. Porém muito ainda precisa ser melhor compreendido sobre o processo hematopoético, as bases moleculares do processo de diferenciação e proliferação celular e a plasticidade das células para que se estabeleçam novas estratégias terapêuticas eficientes e seguras.

Referências bibliográficas:

COOPER, GEOFFREY M.; HAUSMAN, ROBERT E.; A célula uma abordagem molecular; Tradução Maria Regina Borges-Osório. -3. ed.-Porto Alegre:Artmed, 2007.

DE ROBERTIS, EDUARDO M. F.; HIB, JOSÉ. Bases da biologia celular e molecular. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

GROTTO, HELENA Z. W.; NORONHA, JOSÉ F. A. Identificação das células-tronco hematopoéticas: citometria de fluxo convencional versus contador hematológico automatizado. Revista Bras. Hematol. Hemoter. v.25 n.3 São José do Rio Preto, 2003.

LODISH, HARVEY [et al.] Biologia celular e molecular-5. ed.-Porto Alegre:Artmed, 2005.

NAKAGE, ANA PAULA; SANTANA AUREO EVANGELISTA. Células-tronco hematopoéticas em cães. Ciência rural, Santa Maria, v.36, n.1, p.325-329, jan-fev, 2006.

PATON EJA; COUTINHO MA & VOLTARELLI JC. Diagnóstico e tratamento das complicações agudas do transplante de células progenitoras hematopoéticas. **Medicina, Ribeirão Preto**, 33: 264-267, jul./set., 2000.

PEREIRA, LYGIA DA VEIGA. A importância do uso das células tronco para a saúde pública. Ciência & Saúde Coletiva, 13(1):7-14, 2008.

VOLTARELLI JC & STRACIERI ABPL. Aspectos imunológicos dos transplantes de células-tronco hematopoéticas. **Medicina, Ribeirão Preto**.

VOLTARELLI, JÚLIO C. Transplante de células-tronco hematopoéticas para doenças auto-imunes no Brasil. Revista Bras. Hematol. Hemot., 2004

ZAGO, MARCO A., COVAS, DIMAS T. Células-tronco a nova fronteira da medicina.- São Paulo; Editora Atheneu, 2006.

