

P. M. Biava



## RIASSUNTO

Esperimenti condotti su diverse linee cellulari di tumori umani trattati con i fattori prelevati dall'embrione di Zebrafish a diversi stadi di differenziazione delle cellule staminali hanno evidenziato una significativa riduzione della curva di crescita di tutte le linee cellulari trattate. Ricerche condotte per comprendere quali eventi molecolari fossero coinvolti in questo tipo di regolazione e di controllo hanno dimostrato che molecole chiave del ciclo cellulare, quali p53 e pRb, subiscono una regolazione trascrizionale o post-traslazionale. Ricerche sui processi di apoptosi e di differenziazione hanno evidenziato che il trattamento di tumori con i fattori di differenziazione delle cellule staminali induce l'attivazione della caspasi 3, principalmente attraverso la regolazione del gene E2F-1 e conseguentemente una iper-espressione di c-Myc e l'attivazione di un pathway apoptotico p73 dipendente. Inoltre si è dimostrata una contemporanea e significativa normalizzazione del rapporto tra e-caderine e beta-catenine, con aumento del livello di e-caderine. In uno studio aperto randomizzato su 179 pazienti affetti da epatocarcinoma in stadio intermedio-avanzato, la somministrazione di un prodotto meso a punto per la terapia umana contenente fattori di differenziazione delle cellule staminali ha evidenziato il 19,8% di regressioni (2,6% di regressioni complete) ed il 16% di stabilizzazioni con significativo aumento del tempo di sopravvivenza nei pazienti che hanno risposto al trattamento. Uno studio più recente su 50 casi di epatocarcinoma in fase intermedio-avanzata ha dimostrato un numero ancora più elevato di regressioni complete (13,1%). Inoltre, tali fattori di differenziazione utilizzati in modelli di studio per valutare la neurodegenerazione, quali le cellule dell'ippocampo di topo, hanno evidenziato di essere in grado di prevenire in modo statisticamente molto significativo i processi neurodegenerativi indotti da dosi elevate di NMDA (N-Methyl-D-Aspartato).

Infine, alcuni studi clinici hanno evidenziato un miglioramento molto significativo delle lesioni psoriasiche in circa l'80% dei pazienti, con riduzione o scomparsa delle placche psoriasiche, dell'eritema e del prurito.

- L'utilizzo di tali fattori ha portato a concepire un nuovo modello del Sistema complesso adattativo mente-corpo (*Olopattern*), in cui si integrano i nuovi concetti di epigenetica e di trasmissione dell'informazione nei sistemi biologici, integrando in esso il Sistema PNEI.

**PAROLE CHIAVE** CELLULE STAMINALI, CANCRO, REGOLATORI EPIGENETICI, OLOPATTERN, ZEBRAFISH

**SUMMARY:** Experiments on different human tumor cell lines treated with stem cell differentiation stage factors taken from Zebrafish embryos during different stages of cell differentiation, demonstrated a significant slowdown in tumor proliferation rate. The studies carried out in order to find out which regulation pathways in the embryo are involved in this mechanism of tumor growth inhibition, demonstrated that the key cell cycle regulator molecules, such as p53 and pRb,

ATTI DEL XXVI CONGRESSO DI MEDICINA BIOLOGICA  
- LOW DOSE MEDICINE -  
UPDATE RESEARCH - SAFE THERAPY  
Milano, 26 Maggio 2012

## L'UTILIZZO DEI FATTORI DI DIFFERENZIAZIONE DELLE CELLULE STAMINALI COME REGOLATORI EPIGENETICI NELLE MALATTIE CRONICO-DEGENERATIVE ED IN MEDICINA RIGENERATIVA - UN NUOVO MODELLO (OLOPATTERN) DEL SISTEMA COGNITIVO MENTE-CORPO

THE USE OF STEM CELLS DIFFERENTIATION STAGE FACTORS AS EPIGENETIC REGULATORS IN CHRONIC-DEGENERATIVE DISEASES AND IN REGENERATIVE MEDICINE

- A NEW COGNITIVE MIND-BODY SYSTEM MODEL (OLOPATTERN)

are modified by transcriptional and post-translational processes.

Research on apoptosis and differentiation revealed that treatment with stem cell differentiation stage factors induces caspase 3 activation, mainly by increasing the release of E2F-1, leading to c-Myc overexpression and activation of a p73 apoptotic-dependent pathway. Moreover, a concurrent significant normalization effect on the ratio of e-cadherin and beta catenin, with increase in e-cadherin levels, was observed. A product prepared for human treatment containing stem cell differentiation stage factors demonstrated 19.8% regression (2.6% of complete regression), 16% stable disease, and a significant difference in survival between the group of patients who responded to treatment versus the group with progression of the disease in an open randomized clinical trial on 179 patients with intermediate-advanced hepatocellular carcinoma. A more recent

clinical trial on 50 cases of hepatocellular carcinoma in intermediate-advanced stages demonstrated a greater rate (13.1%) of complete regression. In addition, these factors used in a model to study the neurodegenerative processes, like the hippocampus cells of mice, demonstrated a significant prevention of neurodegenerative events induced by using high doses of NMDA.

- Finally, some clinical trials demonstrated a significant improvement of psoriasis lesions after the treatment with stem cell differentiations stage factors, with reduction of chertosis, eritema and itching. The use of stem cell differentiation factors has been allowed to conceive a new model of the complex-adaptive body-mind system (*Olopattern*), in which the PNEI system is well integrated.

**KEY WORDS:** STEM CELLS, CANCER, EPIGENETIC REGULATORS, OLOPATTERN, ZEBRAFISH

## INTRODUZIONE

È noto dalla letteratura che il **microambiente embrionario** è in grado di **ridurre** o **sopprimere lo sviluppo di tumori** quando sono in corso processi di differenziazione cellulare (1,2).

La somministrazione di sostanze sicuramente cancerogene durante l'organogenesi causa malformazioni embrionali, ma non induce la formazione di tumori nella prole.

Quando l'organogenesi è terminata, la somministrazione di cancerogeni provoca, invece, un aumento della frequenza con cui si manifestano tumori nella prole (3,4,5).

Questi dati indicano che il cancro può essere interpretato come una deviazione del normale sviluppo, suscettibile di controllo da parte di fattori presenti nel microambiente embrionario durante il periodo del differenziamento cellulare.

Inoltre è stato dimostrato che il teratocarcinoma si differenzia in tessuti normali, quando impiantato nell'embrione (6). Recentemente è stato evidenziato che

l'impianto di un melanoma nell'embrione di Zebrafish (NdR: *Danio rerio*, Hamilton 1822) non dà origine a tumori, laddove l'impianto in pesci adulti dà invece origine a tumori (7).

Inoltre l'iniezione del melanoma nelle membrane extraembrionali di Zebrafish dà origine a cellule del Sistema nervoso dello Zebrafish stesso, dimostrando – così – che le cellule tumorali possono differenziarsi in tessuti normali dell'organismo nel cui embrione sono impiantate (8).

– Considerando tale *background*, vengono qui riassunti alcuni esperimenti condotti nell'arco di vent'anni – sia *in vitro* sia *in vivo* – e studi clinici su casi di epatocarcinoma in fase intermedia ed avanzata, utilizzando i fattori prelevati in precisi momenti del differenziamento delle cellule staminali.

Da ultimo vengono riportati esperimenti più recenti che hanno evidenziato come i fattori di differenziazione delle cellule staminali siano in grado di prevenire i processi neurodegenerativi, utilizzando il modello *in vitro* costituito dalle cellule dell'ippocampo di topo e come, in diversi *trial* clinici, tali fattori siano in grado di apportare miglioramenti significativi in casi di psoriasi.

## MATERIALI E METODI

I materiali ed i metodi relativi alla preparazione degli estratti, agli esperimenti *in vitro* su differenti linee di tumori umani, alla selezione dei pazienti ed i metodi usati nei *trial* clinici sull'epatocarcinoma sono già stati illustrati (9,10).

Anche per quanto si riferisce agli studi clinici sulla psoriasi i materiali e metodi sono già stati pubblicati (11,12).

Per quanto riguarda lo studio, non pubblicato, sulla prevenzione della neurodegenerazione, fettine organotipiche ippocampali sono state preparate come descritto in letteratura (13).

Per testare l'effetto degli estratti di Zebrafish, fettine organotipiche sono state esposte a NMDA (N-Methyl-D-Aspartato) 50  $\mu$ M in *Serum Free medium*, in presenza o assenza degli estratti.

Per ogni tipo di trattamento, è stata valutata l'attività neuroprotettiva degli estratti: A, prelevato in medio-blastula-gastrula; B, prelevato nello stadio di 5 somiti; C, prelevato nello stadio di 20 somiti, somministrati sia separatamente, sia come miscela (A+B+C).

Per valutare il danno cellulare indotto dai differenti trattamenti è stata utilizzata la fluorescenza associata all'uso del propidio ioduro (PI) (5 mg/ml) come descritto in letteratura (14).

L'analisi quantitativa della mortalità cellulare è stata effettuata nell'area CA1 dell'ippocampo utilizzando come termine di paragone il massimo danno cellulare ottenuto esponendo le fettine organotipiche al solo trattamento con NMDA. Le immagini sono state acquisite con un microscopio a epifluorescenza Zeiss Axiovert 200M (obiettivo 10x) e CoolSnap CCD camera.

Per l'analisi quantitativa, le immagini sono state acquisite con gli stessi *setting* e tempi di esposizione. L'intensità media di fluorescenza è stata determinata dopo aver tracciato l'area corrispondente all'area CA1 e la mortalità analizzata in funzione dell'intensità di fluorescenza e dell'area espressa come *pixel*<sup>2</sup>.

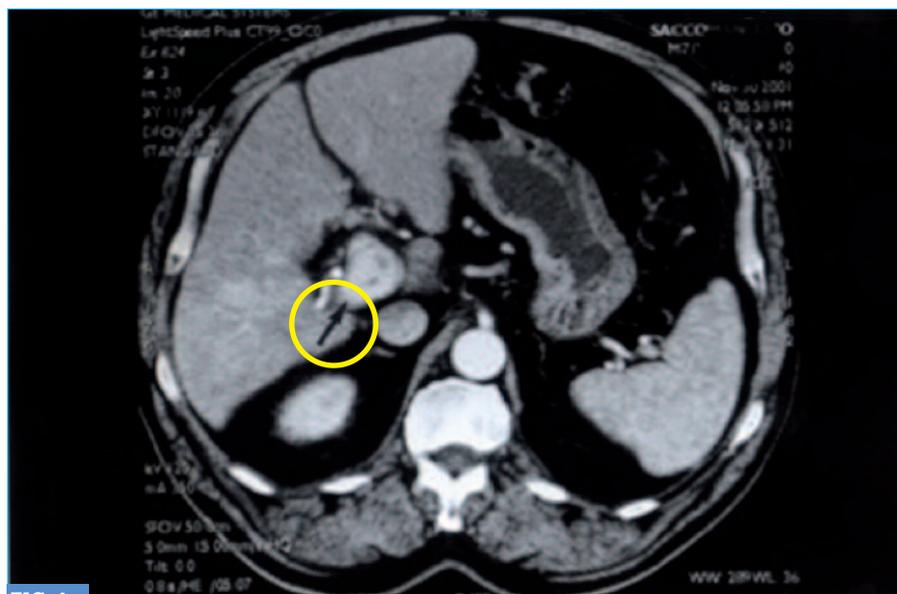


FIG. 1

La tomografia computerizzata spirale durante la fase arteriosa precedente alla terapia con i fattori di differenziazione delle cellule staminali (SCDSF) mostra un HCC avanzato nel lobo destro del fegato. Aree di ipervascolarizzazione neoplastiche sono presenti al segmento 7; un trombo ipervascolarizzato (freccia) occupa il ramo portale destro e raggiunge il tronco principale.

## I RISULTATI DEGLI ESPERIMENTI IN VITRO SU DIVERSE LINEE DI TUMORI UMANI

Sette diverse linee di tumori umani (glioblastoma multiforme, melanoma, epatocarcinoma, adenocarcinoma del rene, del colon, della mammella, leucemia linfoblastica acuta) sono stati trattati con i fattori prelevati da embrioni di Zebrafish a **quattro** diversi stadi di sviluppo: **1)** stadio di morula, caratterizzato solo da eventi moltiplicativi e pertanto costituito da cellule staminali embrionali totipotenti; **2)** stadio di medio-blastula-gastrula (50% di epibolia), in cui le cellule staminali embrionali totipotenti si differenziano in pluripotenti; **3)** stadio di 5 somiti; **4)** stadio di 20 somiti, nei quali avvengono eventi di differenziazione importanti che caratterizzano la fase intermedia e finale del differenziamento embrionario.

Tutte le linee cellulari hanno dimostrato un rallentamento significativo della curva di crescita quando trattate con i fattori prelevati nei diversi momenti del differenziamento cellulare, con percentuali di inibizione che variano dal **73%** del glioblastoma al **26%** del melanoma.

– Non si è notato alcun effetto di rallentamento della curva di crescita (al contrario: lieve stimolo alla proliferazione tumorale) quando le diverse linee cellulari sono state trattate con i fattori prelevati nello stadio di morula.

Tali dati rafforzano il concetto che gli stadi di differenziazione cellulare sono caratterizzati dalla presenza di *network* di fattori, in grado di **ri-indirizzare** le cellule tumorali in una via di normale sviluppo cellulare e che tali *network* compaiono nelle primissime fasi del processo di gastrulazione, mentre sono assenti negli stadi moltiplicativi (9).

Sono stati condotti numerosi studi per capire quali eventi molecolari fossero coinvolti nei meccanismi di inibizione della crescita tumorale. È stato dimostrato che le molecole che hanno un ruolo fondamentale nel processo di regolazione del ciclo cellulare, quali **p53**

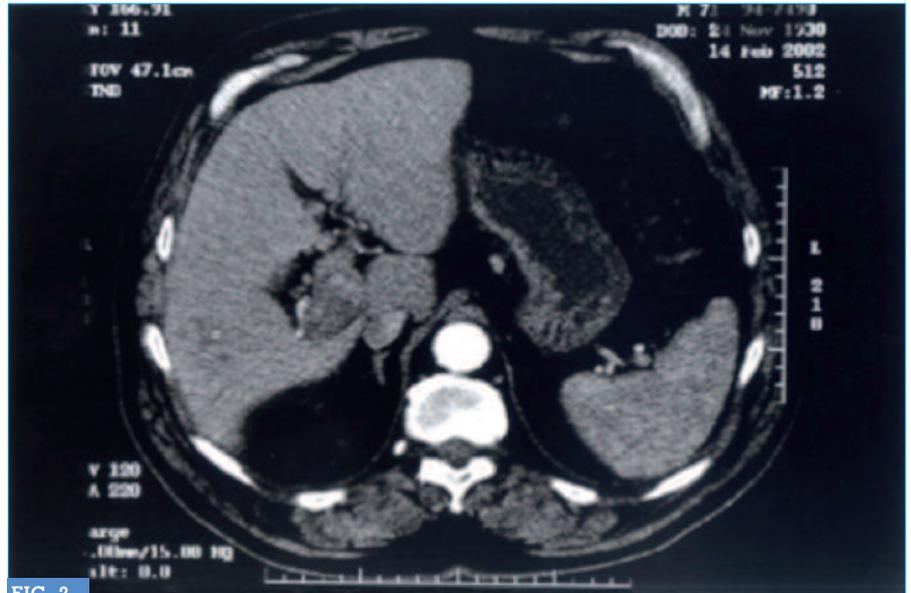


FIG. 2

La tomografia computerizzata spirale eseguita 6 mesi dopo la terapia con SCDSF evidenzia il restringimento del trombo ipervascolarizzato e la scomparsa dell'HCC nel lobo destro.

e **pRb** sono coinvolte attraverso eventi di regolazione trascrizionale o post-traduzionale.

Più precisamente, si è dimostrata una regolazione trascrizionale di p53, evidenziata da un considerevole aumento della concentrazione di tale proteina nelle cellule di alcune linee tumorali, quali il glioblastoma multiforme e il melanoma, sia mediante citofluorimetria, sia mediante metodo immunocitochimico, dopo trattamento con i fattori di differenziazione cellulare (15).

Su altre linee tumorali, quali ad esempio l'adenocarcinoma del rene, il rallentamento della crescita tumorale è dovuto invece ad una regolazione post-traduzionale delle proteina del retinoblastoma (pRb), regolazione che porta ad una modificazione del rapporto tra forma fosforilata e non fosforilata di tale proteina, a favore della forma non fosforilata (16).

La forma non fosforilata blocca il ciclo cellulare, impedendo la trascrizione del gene E2F-1, che invece si verifica quando la proteina viene fosforilata.

Per comprendere, infine, quali siano le conseguenze dovute alla regolazione del ciclo cellulare delle cellule tumorali da parte dei fattori di differenziazione sono stati studiati sia gli eventi

apoptotici, sia di differenziazione cellulare.

L'analisi condotta su cellule di adenocarcinoma del colon ha evidenziato, da un lato, sia l'attivazione di un *pathway* apoptotico dipendente da p73, sia di un *pathway* di differenziazione cellulare. In effetti nelle culture di cellule del tumore del colon è stata evidenziato, oltre ad un aumento significativo dell'apoptosi, anche un aumento considerevole della concentrazione di e-caderine, *marker* del differenziamento cellulare (17). Pertanto i meccanismi molecolari alla base del rallentamento della crescita tumorale dovuta al trattamento con i fattori di differenziazione delle staminali si possono sintetizzare nel modo seguente: arresto del ciclo cellulare in fase G1-S o G2-M (secondo il tipo di tumore); riparazione dei danni genetici e ri-differenziazione cellulare o, qualora la riparazione sia impossibile per la gravità delle mutazioni, apoptosi delle cellule tumorali.

## I RISULTATI DEGLI STUDI CLINICI SULL'EPATOCARCINOMA IN FASE INTERMEDIO-AVANZATA

Uno studio clinico randomizzato condotto dal 1° gennaio 2001 al 31 aprile



FIG. 3

In altro caso la tomografia computerizzata, eseguita durante la fase arteriosa precedente alla terapia SCDSF, mostra numerosi noduli di HCC.

2004 su 179 pazienti affetti da epatocarcinoma in fase intermedia-avanzata, non passibili di alcun altro trattamento quale trapianto, resezione, terapie ablative o chemoembolizzazione, sono stati trattati con un prodotto messo a punto a seguito degli studi sopramenzionati. Tale prodotto è stato somministrato ai pazienti nelle dosi di 30 gocce sublinguali 3 volte al dì.

La somministrazione sublinguale è stata scelta poichè si è evidenziato che la frazione attiva nel rallentamento della crescita tumorale è costituita da proteine ed altri fattori, quali acidi nucleici con pesi molecolari non elevati.

È stata valutata sia la risposta sull'evoluzione del tumore, sia la sopravvivenza dei pazienti, oltre che il *performance status*.

– Si è osservato il **19,8%** di regressione ed il **16%** di stabilizzazione della malattia, con una sopravvivenza a 40 mesi di oltre il 60% dei pazienti che avevano risposto al trattamento, contro poco più del 10% degli altri pazienti. Si è ottenuto un miglioramento del *performance status* in percentuale pari a **82,6%** dei pazienti, anche in quelli in cui la malattia è progredita (10).

Più recentemente un nuovo lavoro clinico pubblicato su un numero speciale

di *Current Pharmaceutical Biotechnology*, in cui, come *Guest Editor*, ho affrontato il tema della riprogrammazione delle cellule staminali normali e tumorali, riconferma il ruolo dei fattori di differenziazione delle cellule staminali nel determinare la regressione completa del tumore primitivo del fegato in fase intermedio-avanzata nel **13,1%** dei casi (18).

Vengono riportate le TAC di alcuni casi di regressione completa di epatocarcinomi prima e dopo sei mesi di trattamento con fattori di differenziazione delle cellule staminali e le curve di sopravvivenza dei casi che hanno risposto al trattamento rispetto ai casi di progressione della malattia (FIGG. 1-4; TAB. 1).

### I RISULTATI DEGLI STUDI SPERIMENTALI SULLA NEURODEGENERAZIONE

Una prima serie di esperimenti è stata condotta al fine di stabilire le condizioni sperimentali ottimali per la valutazione di una possibile attività di tipo neuroprotettivo degli estratti di Zebrafish. A questo scopo, è stato verificato che il trattamento per 1h con NMDA 50  $\mu$ M induce una mortalità significativa nelle condizioni sperimentali studiate.

Fettine ippocampali organotipiche sono state trattate per 1 h con NMDA 50  $\mu$ M, per avere una condizione che determini mortalità certa, e 24h dopo è stata condotta la colorazione con PI. Dopo fissazione, è stata acquisita l'area CA1 ed è stata analizzata la mortalità come descritto in Materiali e Metodi.

Il trattamento con NMDA 50  $\mu$ M determina un aumento di mortalità del 47% (NMDA 50  $\mu$ M vs controlli) nell'area CA1 dell'ippocampo 24h dopo il trattamento per 1h con NMDA (50  $\mu$ M).

Sono state quindi valutate le proprietà neuroprotettive degli estratti in seguito ad esposizione di fettine organotipiche ippocampali a stimoli tossici diversi (deprivazione - siero, NMDA 50  $\mu$ M per 1h). In una prima serie di esperimenti è stato analizzato il possibile effetto neuroprotettivo della miscela di estratti A+B+C.

La miscela degli estratti è stata aggiunta (con ulteriore diluizione 1:100) contemporaneamente al trattamento con NMDA o alla semplice deprivazione - siero; le analisi sono state condotte dopo 24h.

Il trattamento con la miscela ABC determina una significativa riduzione della mortalità neuronale ( $-31,6 \pm 6,2\%$ ,  $*p=0,005$ ) indotta da 1h di deprivazione - siero. Come già indicato il trattamento con NMDA (50  $\mu$ M) causa un aumento significativo della mortalità nell'area CA1 ( $**p=0,002$ , NMDA 50  $\mu$ M vs controlli); il co-trattamento con la miscela ABC determina una riduzione significativa della mortalità indotta da NMDA (50  $\mu$ M) ( $p=0,01$ , NMDA 50  $\mu$ M +ABC vs NMDA 50  $\mu$ M).

Successivamente, sono state valutate le eventuali proprietà neuroprotettive degli estratti somministrati singolarmente (A, B o C).

Anche in questo caso, la mortalità neuronale tramite il saggio con propidio ioduro è stata valutata dopo esposizione delle fettine organotipiche ippocampali a deprivazione - siero o a NMDA, in presenza dei diversi estratti di Zebrafish. I singoli estratti hanno dimostrato una certa capacità neuroprotettiva, soprattutto l'estratto A, al limite della significatività, ma non diversa statisticamente

te rispetto ai controlli, né in seguito a deprivazione - siero né in seguito a trattamento con NMDA (50 µM).

## I RISULTATI DEGLI STUDI CLINICI SULLA PSORIASI

Due *trial* clinici (11,12) condotti per valutare l'efficacia in casi di psoriasi a seguito del trattamento con una crema per uso topico contenente, oltre agli estratti di Zebrafish, anche estratti di *Boswellia serrata*, estratti di *Zanthoxylum alatum*, acido 18-β glicirretico, 7-deidrocolesterolo e vitamina E, hanno dimostrato risultati clinici sovrapponibili: 80% di miglioramenti clinici, con riduzione dei fenomeni cheratosici, dell'eritema e del prurito.

– Tali miglioramenti sono comparsi dopo circa 20-30 giorni dall'inizio del trattamento con la crema applicata per tutto l'arco di tempo sopraindicato.

## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

L'utilizzo dei fattori di differenziazione delle cellule staminali nella terapia antitumorale ha permesso di concepire un modello di cancro consistente con la realtà (19).

– In tale modello le cellule tumorali sono considerate cellule indifferenziate, mutate, bloccate in una fase di moltiplicazione compresa tra 2 stadi di differenziazione cellulare. Da questo punto di vista, pertanto, le cellule tumorali possono essere definite come "cellule staminali mutate" che, in rapporto al diverso grado di malignità, vengono considerate bloccate ad un diverso stadio di sviluppo. A sostegno di tale modello si ricorda che in tumori con un grado di malignità elevato, quali la leucemia linfoblastica acuta o mieloide acuta, vengono riscontrate cellule staminali multipotenti mutate, mentre in tumori a minore malignità, come la leucemia linfatica cronica, vengono riscontrate cellule non ancora completamente differenziate, ma in via di differenziazione definitiva.

In accordo con tale visione, vengono ricordate le caratteristiche che accomunano le cellule tumorali a quelle staminali: le cellule tumorali presentano **antigeni oncofetali**, mantenuti durante la filogenesi (20) e recettori specifici sulla membrana cellulare, sui quali probabilmente agiscono i fattori di differenziazione delle cellule staminali. È stato già menzionato che tali fattori attivano *pathway* metabolici di differenziazione cellulare, che conducono la cellula a differenziarsi o a morire, come del resto avviene nell'embrione (gli eventi apoptotici nell'embrione sono numerosi).

Inoltre, le cellule tumorali e le cellule embrionali hanno *pathway* metabolici comuni: ad esempio il *pathway* APC/beta catenina/TCF/Wnt ed il *pathway* Hedgehog/Smoothed/Patched.

– Il problema delle cellule tumorali è duplice: non solo presentano mutazioni genetiche, che sono all'origine della malignità, come noto da tempo, ma – cosa forse più importante – anche uno **sbilanciamento del codice epigenetico**. La configurazione genica ed il metabolismo delle cellule tumorali è – infatti – molto simile a quella delle staminali: entrambe hanno proto-oncogeni attivi, producono fattori di crescita embrionali, presentano antigeni onco-fetali, funzionano con un metabolismo anaero-

bico: la differenza tra cellule staminali e cellule tumorali consiste nel fatto che le cellule tumorali, a differenza delle staminali normali, per le mutazioni subite, non sono più in grado di completare il proprio sviluppo e di differenziarsi.

La correzione del codice epigenetico, attraverso la messa a disposizione dei fattori di differenziazione, fa rientrare le cellule tumorali nell'ambito della normale fisiologia, venendo by-passate le mutazioni alla base delle malignità.

Quello che sta emergendo con sempre maggiore chiarezza è che il DNA regolatorio, che è preponderante rispetto a quello deputato via RNA alla traduzione di proteine, così come i microRNA, i fattori di trascrizione e di regolazione traduzionali e post-traduzionali, hanno ruoli fondamentali nella regolazione del codice genetico.

In altri termini quello che emerge con sempre maggiore evidenza è l'**importanza del codice epigenetico nella regolazione della vita cellulare**.

– In particolare, è il codice epigenetico a determinare il differenziamento cellulare, attivando e disattivando

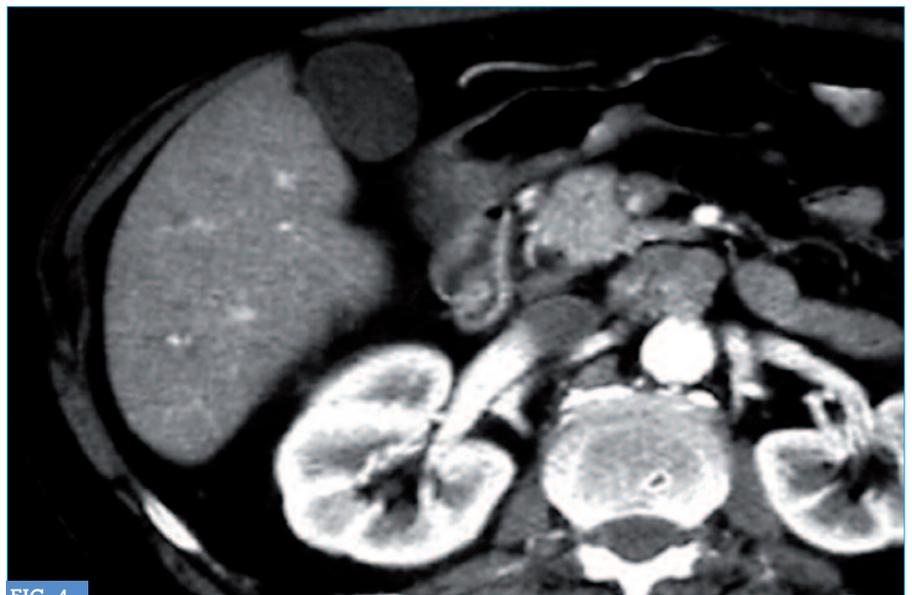
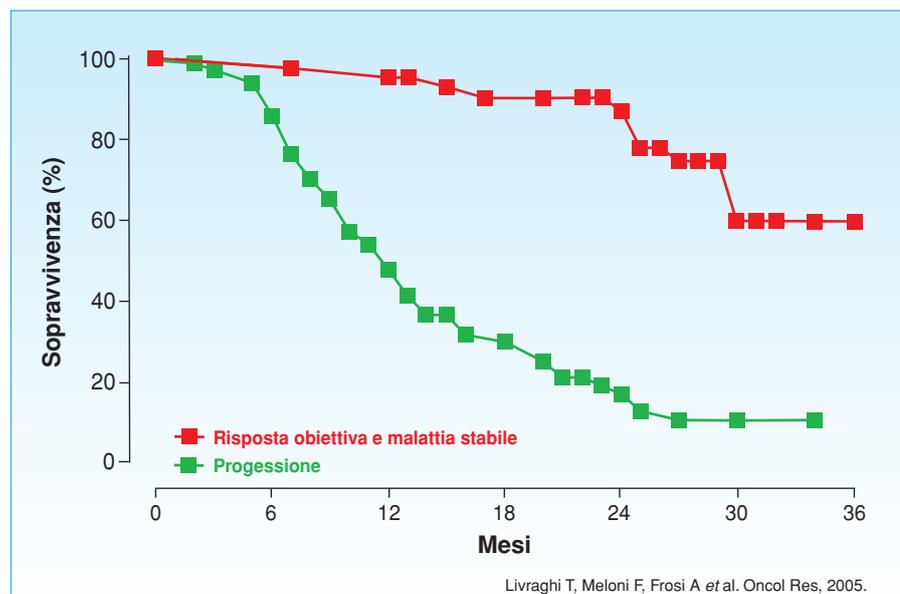


FIG. 4

La tomografia computerizzata, eseguita dopo la terapia con SCDSF, mostra la scomparsa dell'ipervascolarizzazione neoplastica interna ai noduli.



TAB. 1

Terapia con SCDSF di HCC intermedio-avanzato; studio clinico aperto, randomizzato.

in modo specifico e selettivo, numerosi geni che fanno passare una cellula staminale da uno stato indifferenziato ad uno completamente differenziato.

Nelle cellule tumorali questo codice è completamente sbilanciato rispetto ad una cellula differenziata: tale codice nelle cellule maligne è il medesimo di quello presente nelle cellule staminali. I fattori di differenziazione, oltre a differenziare le cellule staminali normali, possono regolare in senso differenziativo anche le cellule tumorali attraverso la repressione di geni della moltiplicazione e l'attivazione di nuovi *pathway* di differenziazione, *by-passando* le mutazioni che sono all'origine della malignità.

– I nostri studi hanno comprovato quanto sopra: sono stati recentemente confermati da altre ricerche effettuate al Children Hospital - Chicago (USA).

Negli USA tali studi stanno destando notevole interesse (21) ed hanno confermato che il melanoma maligno reverte ad un fenotipo normale quando messo a contatto con il microambiente dell'embrione di Zebrafish.

Ciò avviene perché un morfogeno del Sistema nervoso centrale dello Zebra-

fish (Nodal), riespresso nelle cellule del melanoma maligno e responsabile dell'aggressività del medesimo, viene represso da una frazione proteica a basso peso molecolare di 38 KDalton, Lefty, prodotta dalle cellule staminali dello stesso embrione di Zebrafish.

– Questa scoperta conferma pienamente tutti i nostri studi e contribuisce a consolidare un filone di ricerca che può risultare di estrema importanza in campo terapeutico.

D'altra parte negli ultimi anni vi è stato un numero crescente di ricerche che hanno evidenziato che la malignità dei tumori è legata alla presenza di cellule staminali tumorali (22), le quali, per altro, risultano essere resistenti alle terapie tradizionali, quali la chemio e la radioterapia.

Negli ultimi 4-5 anni i lavori scientifici sull'argomento sono così numerosi, che risulta impossibile indicarli tutti.

Qui si indicano solamente le ricerche che dimostrano la presenza di cellule staminali tumorali nel glioblastoma (23, 24, 25), nel tumore della mammella (26, 27, 28, 29, 30, 31), del polmone (32, 33, 34, 35), della prostata (36, 37, 38), dell'ovaio (39, 40, 41, 42, 43), del fegato (44, 45, 46, 47, 48, 49), dello stomaco (50, 51, 52, 53, 54), del colon (55, 56, 57), del pancreas (58, 59, 60)

e del capo e del collo (61, 62, 63, 64).

Da tempo è noto che la malignità di molte malattie tumorali ematologiche sia dovuta alla presenza di cellule staminali. Pertanto l'utilizzo dei fattori di differenziazione delle cellule staminali in oncologia rappresenta una terapia che possiamo definire "epigenetica", in grado di correggere le gravi alterazioni presenti nelle cellule tumorali, permettendo loro di ritornare ad un fenotipo normale. Anche per quanto riguarda le interpretazioni dei risultati conseguenti al trattamento con i fattori di differenziazione delle cellule staminali per la prevenzione della neurodegenerazione e per il trattamento della psoriasi, si possono addurre le stesse ragioni: i **fattori di differenziazione** sono dei **regolatori epigenetici** che – da un lato – impediscono l'insorgenza di fenomeni degenerativi e – dall'altro – regolano i processi di alterata moltiplicazione cellulare, come avviene per esempio nella psoriasi, dove la moltiplicazione delle cellule dello strato basale epiteliale è cinque volte superiore a quella considerata fisiologica: in questo caso abbiamo dimostrato che i fattori di differenziazione rallentano l'alterata moltiplicazione cellulare degli strati epidermici, normalizzandola (dati preliminari in via di conferma, non ancora pubblicati).

– È prevedibile che l'uso dei fattori di regolazione epigenetica possano avere un campo applicativo molto vasto nell'ambito della prevenzione o dei trattamenti di malattie degenerative, non solo del Sistema nervoso, ma anche dell'Apparato cardio-vascolare, osteo-articolare, del diabete, ecc., oltre che in medicina rigenerativa (ad es. fattori *anti-aging*) migliorando le condizioni generali di salute delle persone anziane e, in particolare con gli attuali prodotti per uso topico, migliorando le condizioni della cute.

Gli studi condotti con tali fattori e sommarimente ricordati in questo articolo mi hanno portato a concepire un nuovo modello, che interpreta l'organismo umano come un **Sistema cognitivo mente-corpo**, di cui vengono descritti

tutti i *pattern* di regolazione dell'informazione.

Di fatto il nuovo modello interpreta la persona umana come un Sistema cognitivo complesso.

La PNEI ha avuto una notevole importanza nel chiarire e far comprendere molteplici meccanismi di adattamento e di comportamento dell'organismo umano nei confronti dell'ambiente.

Tuttavia, alla luce delle nuove scoperte in campo bio-medico, l'impostazione basata sul modello PNEI non è più sufficiente ad interpretare la complessità dell'organismo umano e va integrata nel più vasto modello che interpreta l'essere umano come un Sistema informativo integrato mente-corpo.

– La **TAB. 2** illustra il nuovo modello di interpretazione del funzionamento della persona umana, integrando in esso il ruolo della PNEI.

In tale modello sono riportati tutti i *pattern* di regolazione del Sistema cognitivo mente-corpo, ovvero le regolarità che portano allo sviluppo ed al mantenimento della vita.

Questo modello si differenzia da tutti gli altri per l'importanza attribuita al **concetto di informazione** come determinante nel mantenimento della vita.

Risulta evidente, da tutta la serie di esperimenti sopra citati, che i fattori di regolazione epigenetica sono essenzialmente dei fattori di regolazione dell'informazione, che circola nel Sistema vivente e che mantengono la salute e l'integrità del vivente.

Essi mantengono l'ordine informativo, ovvero incrementano la neg-entropia\* e di conseguenza anche l'ordine strut-

turale del Sistema. Risulta chiaro che nel Sistema informativo qui presentato si intende per equilibrio non solo l'equilibrio energetico-termodinamico, ma l'equilibrio complessivo energetico-informazionale, che mantiene la vita.

– Quando insorge la malattia, si ha la perdita dell'ordine e della coerenza dipendenti dall'informazione significativa, che mantiene invece l'equilibrio dinamico neg-entropico.

– Un modello che tenga conto solo dell'equilibrio termodinamico nel funzionamento dei Sistemi viventi – quale è, ad esempio, quello di Prigogine – riesce a descrivere tutte le fasi attraverso le quali passa il Sistema, ma non riesce a cogliere la distinzione tra salute e malattia, fondamentale in campo biologico e medico, laddove deve essere posta in chiara evidenza l'importanza della descrizione dei diversi stati energetico-informazionali che possono mantenere gli organismi viventi nelle condizioni di salute o, al contrario, portarli alla malattia.

In questa visione gli esseri viventi sono Sistemi aperti, ma adattativi ed in equilibrio dinamico con l'ambiente, in virtù dell'informazione che circola istantaneamente in tutto il Sistema, la quale determina l'adattabilità all'ambiente

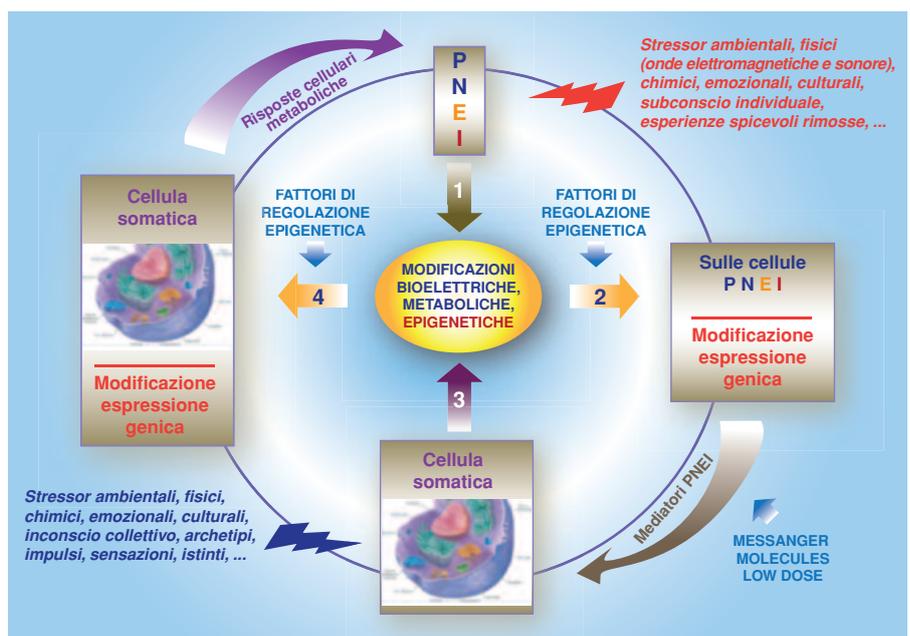
esterno. Solo quando si produce la malattia, si ha perdita dell'equilibrio: il Sistema aperto si allontana dall'equilibrio, avendo perso la neg-entropia, ovvero l'ordine dipendente dall'informazione significativa, che diversamente mantiene l'equilibrio dinamico neg-entropico.

Tenendo conto di tutte le considerazioni di cui sopra, volendoci riferire all'uomo, si può presentare il modello sotto riportato, in cui vengono descritti tutti i *pattern* e gli *step* regolativi dell'informazione circolare, istantanea, che mantiene l'equilibrio dinamico che dà luogo alla vita e mantiene la salute.

– Tale modello olistico potrebbe essere definito come "OLOPATTERN DEL SISTEMA COGNITIVO MENTE-CORPO".

### OLOPATTERN DEL SISTEMA COGNITIVO MENTE-CORPO

In questo modello (**TAB. 2**) viene descritto come le informazioni ambientali di natura fisica, quali le onde elettromagnetiche di tutte le frequenze – da quelle più elevate come i raggi gamma o X, fino alle onde radio – altre informazio-



**TAB. 2**  
**Olopattern del Sistema Cognitivo Mente-Corpo.**

\* La teoria dell'informazione deriva dalla confluenza di 2 teorie: 1) teoria delle comunicazioni elettriche; 2) teoria della termodinamica.

– C. Shannon ha riunito le due teorie ed ha legato il concetto di informazione e di entropia. La misura dell'informazione, valutata in termini puramente fisici, si è rivelata corrispondente all'equazione dell'entropia, uguale ma di segno opposto e definita **neg-entropia**. L'aumento della neg-entropia corrisponde – pertanto – ad un incremento di ordine e di organizzazione di un Sistema.

ni di natura fisica, quali le onde sonore, oppure di natura chimica, compresi gli stimoli causati da agenti tossici e patogeni, gli stimoli emozionali derivanti dai nostri vissuti individuali – compresi quelli derivanti dall'inconscio individuale dove vengono celate accuratamente le esperienze spiacevoli rimosse – e gli stimoli mentali derivanti dalla nostra specifica visione culturale, ecc. influenzano il Sistema PNEI, provocando nelle cellule che costituiscono tale Sistema modificazioni bioelettriche, metaboliche ed epigenetiche.

Modificazioni che coinvolgono tutto il *network* informativo in grado di regolare l'espressione genica, di dirigere il processo decisionale che stabilisce quali geni debbano essere attivati e quali disattivati.

A seguito di tali modificazioni i diversi geni attivati portano alla sintesi di varie proteine che – a propria volta – portano alla produzione dei mediatori del Sistema PNEI.

Detti mediatori del Sistema PNEI agiscono a livello delle cellule somatiche – costituenti la restante parte del corpo non compreso nel Sistema PNEI – sulle quali riversano il loro contenuto informativo.

Su tali cellule somatiche a propria volta agiscono molte altre informazioni, ancora una volta di natura fisica, chimica, emozionale, culturale, oltre a stimoli legati all'inconscio collettivo, che è quella parte dell'inconscio evoluto dal punto di vista filogenetico e rappresentato da quelli che C.G. Jung definisce **archetipi**, oltre che da impulsi, sensazioni, istinti e pulsioni sessuali comuni a tutti gli individui e diversi dall'inconscio individuale legato alle specifiche esperienze personali: gli archetipi hanno grande importanza nel determinare le risposte delle cellule somatiche.

Queste, sotto l'azione di tutti gli stimoli sopra elencati, ovvero delle informazioni menzionate, vanno incontro a modificazioni bioelettriche, metaboliche ed epigenetiche, le quali provoca-

no modificazioni dell'espressione genica. A propria volta, quest'ultima porta le cellule somatiche a produrre molte diverse molecole recanti precise informazioni che agiscono sul Sistema PNEI, incidendo – così – nuovamente sulle risposte di quest'ultimo.

Pertanto, il Sistema adattativo cognitivo mente-corpo funziona come un'unità inscindibile, in cui le informazioni agiscono in modo circolare, provenendo dalla mente, riflettendosi sul corpo, modificando le risposte corporee, sulle quali, a propria volta, agiscono ulteriori stimoli con contenuti informativi che producono altre modificazioni. Tutte queste modificazioni che agiscono sulle cellule somatiche influenzano il Sistema in grado di originare fenomeni mentali, ed il ciclo si ripete.

L'equilibrio di un organismo – quindi – risulta essere un processo che si rinnova continuamente e che è mantenuto da un'organizzazione dell'informazione estremamente coerente, che circola continuamente ed in modo istantaneo in tutto il Sistema e che permette l'esprimersi di quel fenomeno complesso che chiamiamo vita. ■

#### Ringraziamenti:

L'autore ringrazia il Dott. Alessandro Pizzoccaro che – a seguito dell'illustrazione del modello "Sistema Cognitivo Mente-Corpo" (XXVI Congresso di Medicina Biologica - Milano, 26 Maggio 2012) – ha suggerito il nome di *OLOPATTERN* per caratterizzare meglio tale modello. – L'autore ha ritenuto il nome appropriato e sintetico, e da qui la dizione: "*Olopattern* del Sistema Cognitivo Mente-Corpo".

#### Bibliografia

1. Einhorn L. – Are there factors preventing cancer development during embryonic life? *Oncodev. Biol. Med.*, **1982**; 4, 219-229.
2. Lakshmi M.S. and Sherbet G.V. – Embryonic and Tumor Cell Interactions. Karger, Basel, **1974**; 380-399.
3. Brent R.L. – Radiation Teratogenesis. *Teratology*, **1980**; 21, 281-298.
4. Pierce G.B. – The cancer cell and its control by

the embryo. *Am. J. Pathol.*, **1983**; 113, 116-124.

5. Yu C.L. and Tsai M.H. – Fetal fetuin selectively induces apoptosis in cancer cell lines and shows anti-cancer activity in tumor animal models. *Cancer Letter*, **2001**; 166:173/184.
6. Papaioannou V.E., McBurney M.V., Gardner R.L., Evans R.L. – Fate of teratocarcinoma cells injected into early mouse embryos. *Nature*, **1975**; 258, 70-73.
7. Topczewska J.M., Postovit L.M., Margaryan N.V. – Embryonic and tumorigenic pathways converge via Nodal signaling: role in melanoma aggressiveness. *Nature Med.*, **2006**; 12 (8): 925-932.
8. Kulesa P.M., Kasermeier-Kulesa J.C., Teddy J.M., Margaryan N.V., Seftor E.A., Hendrix M.J. – Reprogramming metastatic tumor cells to assume a neural crest like phenotype in a embryonic microenvironment. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **2006**; 103, 3752-3757.
9. Biava P.M., Bonsignorio D., Hoxa M. – Cell proliferation curves of different human tumor lines after in vitro treatment with Zebrafish embryonic extracts. *J. Tumor Marker Oncol.*, **2001**; 16 195-202.
10. Livraghi T., Meloni F., Frosi A., Lazzaroni S., Bizzarri M., Frati L., Biava P.M. – Treatment with stem cell differentiation stage factors of intermediate-advanced hepatocellular carcinoma: an open randomized clinical trial. *Oncol Res.*, **2005**; 15 (7,8): 399-408.
11. Di Piero F., Negri M., Bollero C. – Terapia della psoriasi. Efficacia clinica di un preparato multi-componente. *Cosmetic Technology*, **2009**; 12 (2): 13-17.
12. Harak H., Frosi A., Biava P.M. – Studio clinico sull'efficacia e tollerabilità di una crema per uso topico nel trattamento della psoriasi. *La Med. Biol.*, **2012**/3; 27-31.
13. Gardoni F., Bellone C., Viviani B., Marinovich M., Meli E., Pellegrini-Giampietro D.E., Cattabeni F., Di Luca M. – Lack of PSD-95 drives hippocampal neuronal cell death through activation of an alpha CaMKII transduction pathway. *Eur J Neurosci.* **2002**; Sep;16(5):777-86.
14. Pellegrini-Giampietro D.E., Cozzi A., Peruginelli F., Leonardi P., Meli E., Pellicciari R., Moroni F. – 1-Aminoindan-1,5-dicarboxylic acid and (S)-(+)-2-(3'-carboxybicyclo[1.1.1]pentyl)-glycine, two mGlu1 receptor-preferring antagonists, reduce neuronal death in in vitro and in vivo models of cerebral ischaemia. *Eur J Neurosci.* **1999**; Oct;11(10):3637-47.
15. Biava P.M. and Carluccio A. – Activation of anti-oncogene p53 produced by embryonic extracts in vitro tumor cells. *J. Tumor Marker Oncol.*, **1977**; 12, 9-15.
16. Biava P.M., Bonsignorio D., Hoxa M., Facco R., Ielapi T., Frati L., Bizzarri M. – Post-translational modification of the retinoblastoma protein (pRb) induced by in vitro administration of Zebrafish embryonic extracts on human kidney adenocarcinoma cell line. *J. Tumor Marker Oncol.*, **2002**; 17(2); 59-64.
17. Cucina A., Biava P.M., D'Anselmi F., Coluccia P., Conti F., Di Clemente R., Micheli A., Frati L., Gulino A., Bizzarri M. – Zebrafish embryo proteins induce apoptosis in human colon cancer cells (Caco2). *Apoptosis*, **2006**; 9, 1617-1628.
18. Livraghi T. et Al. – *in special issue* "Reprogramming of Normal and Cancer Stem Cells". Biava P.M. Guest Editor, *Current Pharmaceutical Bio-*

- technology, Vol. 12 N.2 Feb 2011; 254-260.
19. Biava P.M., Bonsignorio D. – Cancer and cell differentiation: a model to explain malignancy. *2002*; 17(3): 47-54.
  20. Biava P.M., Monguzzi A., Bonsignorio D., Frosi A., Sell S., Klavins J.V. – Xenopus laevis embryos share antigens with Zebrafish embryos and with human malignant neoplasms. *J. Tumor Marker Oncol.* **2001**; 16; 203-206.
  21. Postovit L.M., Maragaryan N.V., Seftor E.A. – Human embryonic stem cell microenvironment suppress the tumorigenic phenotype of aggressive cancer cells. *Proc. Nat. Acad. Sci USA*, **2008**; 18: 105-111.
  22. Reya T., Morrison S.J., Clarke M.F., Weisman I.L. – Stem cells, cancer and cancer stem cells. *Nature*, **2001**; 414(6859), 105-111.
  23. Sato A., Sakurada K., Kumabe T., Sasajima T., Beppu T., Azano K., Ohkuma H., Ogawa A., Mizoi K., Tominaga T., Kitanaka C., Kayama T. – Association of stem cell marker CD133 expression with dissemination of glioblastoma. *Neurosurg. Rev.*, **2010**; 33(2), 175-183.
  24. Di Tommaso T., Mazzoleni S., Wang E., Sovena G., Claverna D., Franzin A., Mortini P., Ferrone S., Dogliani C., Marincola F.M., Galli R., Parmiani G., Maccallini M. – Immunobiological characterization of cancer stem cells isolated from glioblastoma patients. *Clin. Cancer Res.*, **2010**; 16(3)800-813.
  25. Ji J., Black K.C., Yu J.S. – Glioma stem cell research for the development of immunotherapy. *Neurosurg. Clin. N. Am.*, **2010**; 21(1). 159-166.
  26. Chen J., Chen Z.L. – Technology update for the sorting and identification of breast cancer stem cells. *Chin. J. Cancer*, **2010**; 29 (3), 265-269.
  27. Roesler R., Cornelio D.B., Abujama A.L., Schwartzmann G. – HER2 as a cancer stem-cell target. *Lancet Oncol.*, **2010**; 11(3), 225-226.
  28. Wu W. – Patents related to cancer stem cell research. *Recent Pat. DNA Gene Seq.*, **2010**; 4(1) 40-45.
  29. Park S.Y., Lee H.E., Li H., Shipitsin M., Gelman R., Polyak K. – Heterogeneity for stem cell-related markers according to tumor subtype and histologic stage in breast cancer. *Cancer Res.*, **2010**; 16(3), 876-887.
  30. Lawson J.C., Blatch G.L., Edkins A.L. – Cancer stem cells in breast cancer and metastasis. *Cancer Res. Treat.*, **2009**; 8(2), 241-254.
  31. Luo J., Yin X., Ma T., Lu J. – Stem cells in normal mammary gland and breast cancer. *Am. J. Med. Sci.*, **2010**; 339(4), 366-370.
  32. Spiro S.G., Tanner N.T., Silvestri G.A., James S.M., Lim E., Vansteenkiste J.F., Pirker R. – Lung cancer: progress in diagnosis staging and therapy. *Respirolog*, **2010**; 15(1), 44-50.
  33. Gorelik E., Lokshin A., Levina L. – Lung cancer stem cells as target for therapy. *Anticancer Agents Med. Chem.*, **2010**; 10(2), 164-171.
  34. Sullivan J.P., Minna J.D., Shay J.W. – Evidence for self-renewing lung cancer stem cells and their implications in tumor initiation, progression and targeted therapy. *Cancer Metastasis Rev.*, **2010**; 29(1) 61-72.
  35. Westhoff B., Colaluca I.N., D'Ario G., Donzelli M., Tosoni D., Volorio G., Pelosi G., Spaggiari L., Mazzarol G., Viale G., Pece S., Di Fiore P.P. – Alteration of the Notch pathway in lung cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2010**; 87(3) 457-466.
  36. Lawson Da., Zong Y., Memarzadeh S., Xin L., Huang J., Witte O.N. – Basal epithelial stem cells are efficient targets for prostate cancer initiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2010**; 107(6), 2610-2615.
  37. Lang S.H., Anderson E., Fordham R., Collin A.T. – Modeling the prostate stem cell niche: an evaluation of stem cell survival and expansion in vitro. *Stem Cells Rev.*, **2010**; 19(4), 537-546.
  38. Joung J.Y., Cho K.S., Kim J.E., Seo H.K., Ching J., Park W.S., Choi M.K., Lee K.H. – Prostate stem cell antigen mRNA in peripheral blood as a potential predictor of biochemical recurrence of metastatic prostate cancer. *J. Surg. Onc.*, **2010**; 101(2), 145-148.
  39. Liu T., Cheng W., Lai D., Huang Y., Guo L. – Characterization of primary ovarian cancer cells in different culture systems. *Oncol. Rep.*, **2010**; 23(5), 1277-1284.
  40. Fong M., Kakar S.S. – The role of cancer stem cells and the side population in epithelial ovarian cancer. *Histol. Histopathol.*, **2010**; 25(1), 113-120.
  41. Murphy S.K. – Targeting ovarian cancer initiating cells. *Anticancer Agents*, **2010**; 10(2), 157-163.
  42. Pen S., Maihle N.J., Huang Y. – Pluripotency factors Lin 28 and Oct 4 identify a sub-population of stem cell-like cells in ovarian cancer. *Oncogene*, **2010**; 29(14), 2153-2159.
  43. Kusumbe A.P., Bapat S.A. – Cancer stem cells and aneuploid populations within developing tumors are the major determinants of tumor dormancy. *Cancer Res.*, **2009**; 69(24) 9245-9253.
  44. Tomuleasa C., Soritau O., Rus-Ciucu D., Pop T., Todea D., Mosteanu O., Pinteau B., Foris V., Susman S., Kacso G., Irimie A. – Isolation and characterization of hepatic cells with stem-like properties from hepatocellular carcinoma. *J. Gastrointest. Liver Dis.*, **2010**; 19(1), 61-67.
  45. Zou G.M. – Liver cancer stem cells as an important target in liver cancer therapies. *Anticancer Agents Med. Chem.*, **2010**; 10(2), 172-175.
  46. Lee T.K., Castilho A., Ma S., Ng I.O.I. – Liver cancer stem cells: implication for new therapeutic target. *Liver Intern.* **2009**; 29(5), 955-965.
  47. Marquardt J.U., Thorgeirsson S.S. – Stem Cells in hepatocarcinogenesis: evidence from genomic data. *Semin Liver Dis.*, **2010**; 30(1), 26-34.
  48. Kung J.W., Currie I.S., Forbes S.J., Ross J.A. – Liver development, regeneration, and carcinogenesis. *J. Biomed. Biotechnol.*, **2010**; 30(1), 26-34.
  49. Gai H., Nguyen D.M., Moon Y.J., Aguila J.R., Fink L.M., Ward D.C., Ma Y. – Generation of murine hepatic lineage cells from induced pluripotent stem cells. *Differentiation*, **2010**; 79(3) 171-181.
  50. Correia M., Machado J.C., Ristimaki A. – Basic aspects of gastric cancer. *Helicobacter*, **2009**, 14(1), 36-40.
  51. Takaishi S., Okumura T., Tu S., Wang S.S., Shibata W., Vigneshwaran R., Gordon S.A., Shimada Y., Wang T.C. – Identification of gastric cancer stem cells using the surface marker CD44. *Stem Cells*, **2009**; 59(5), 106-120.
  52. Nishii T., Yashiro M., Shinto O., Sawada T., Ohira M., Hirakawa K. – Cancer stem cell-like SP cells have a high adhesion ability to the peritoneum in gastric carcinoma. *Cancer Sci.*, **2009**; 100(8), 1397-1402.
  53. Chen Z., Xu W.R., Quian H., Zhu W., Bu X.F., Wang S., Yan Y.M., Mao F., Gu H.B., Cao H.L., Xu Xj – Oct4 a novel marker for human gastric cancer. *J. Surg. Oncol.*, **2009**; 34(5), 1201-1207.
  54. Kang D.H., Han M.E., Song M.H., Lee Y.S., Kim E.H., Kim H.J., Kim G.H., Kim D.H., Yoon S., Baek S.Y., Kim B.S., Kim G.B., Oh S.O. – The role of hedgehog signaling during gastric regeneration. *J. Gastroenterol.*, **2009**; 44(5), 372-379.
  55. Yeung T.M., Ghandhi S.C., Wilding J.L., Muschel R., Bodmer W.F. – Cancer stem cells from colorectal cancer derived cell lines. *Proc. Natl. Sci. USA*, **2010**; 107(8), 3722-3727.
  56. Gulino A., Ferretti E., De Smaele E. – Hedgehog signaling in colon cancer and stem cells. *EMBO*, **2009**; 1(6-7) 300-302.
  57. Thenappen A., Li Y., Shetty K., Johnson L., Reddy E.P., Mishra L. – New therapeutic targeting colon cancer stem cells. *Curr. Colorectal Cancer Rep.*, **2009**; 5(4), 209.
  58. Rasheed Z.A., Yang J., Wang Q., Kowalski J., Freed I., Murter C., Hong S.M., Koorstra J.B., Rajeshkumar N.V., He X., Goggins M., Iacubuzio-Donahue C., Bertram D.M., Laheru D., Jimeno A., Hidalgo M., Maitra A., Matsui W. – Prognostic significance of tumorigenic cells with mesenchymal features in pancreatic adenocarcinoma. *J. Natl. Cancer Inst.*, **2010**; 102(5), 340-351.
  59. Puri S.H., Hebrok J. – Cellular plasticity within pancreas-lessons learned from development. *Dev. Cell.*, **2010**; 18(3), 342-356.
  60. Quante M., Wang T.C. – Stem cells in gastroenterology and hepatology. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.*, **2009**; 6(12), 724-737.
  61. Ailles L. and Prince M. – Cancer stem cells in head and neck squamous cell carcinoma. *Methods Mol. Biol.*, **2009**; 568, 175-193.
  62. Zhang P., Zhang Y., Mao L., Zhang Z., Chen W. – Side population in oral squamous cell carcinoma possesses tumor stem cell phenotype. *Cancer Lett.*, **2009**; 277(2), 227-234.
  63. Brunner M., Thurnher D., Heiduschka G., Grasl MCh., Brostjan C., Erovic B.M. – Elevated levels of circulating endothelial progenitor cells in head and neck cancer patients. *J. Surg. Oncol.*, **2008**; 98(7), 545-550.
  64. Zhang Q., Shi S., Yen Y., Brown J., Ta J.Q., Le A.D. – A subpopulation of CD133(+) cancer stem-like cells characterized in human oral squamous cell carcinoma confer resistance to chemotherapy. *Cancer Lett.*, **2010**; 289(29), 151-160.

### Riferimento bibliografico

BIAVA P. M. – L'utilizzo dei fattori di differenziazione delle cellule staminali come regolatori epigenetici nelle malattie cronico-degenerative ed in medicina rigenerativa. Un nuovo modello (*Olopattern*) del Sistema Cognitivo Mente-Corpo. *La Med. Biol.*, **2012**/4; 3-11.

### autore

**Prof. Pier Mario Biava**

– Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico Multimedita

Via Milanese, 300

I – 20099 Sesto San Giovanni (MI)