



R.A. Bianchi

RIASSUNTO

Le cellule pluripotenti sono cellule immature, diverse da tutti i tipi di cellule presenti nell'organismo, ad alto potenziale proliferativo ed in grado di rinnovarsi.

È noto che sia da embrioni, da feti e, più recentemente, dalle cellule umane adulte sia eterologhe che autologhe si possano ottenere cellule pluripotenti in grado di rigenerare diversi Tessuti, anche al di fuori del foglietto embrionario originario, tramite la transdifferenziazione.

Il sangue e il Tessuto adiposo sono i Tessuti più reperibili per le sperimentazioni d'avanguardia, con il vantaggio, per il sangue, di reperimento di cellule pluripotenti di diversa provenienza, emopoietiche e stromali. Nell'attuale ricerca si osservano gli effetti sul sangue (diluito e dinamizzato) della mobilizzazione tramite ossigeno e Galium-Heel®.

– Si evince una maggiore longevità e resistenza eritrocitaria alla lisi, all'ossidazione, all'invecchiamento, visibile al microscopio in campo oscuro dopo 15, 30, 60 e 1.440 minuti e la possibilità di attivare un trapianto autologo in ambito artroreumatico e ortopedico riabilitativo, oltre che vascolare ed immunitario.

PAROLE CHIAVE CELLULE PLURIPOTENTI, TRAPIANTO DI SANGUE AUTOLOGO, MICROSCOPIA IN CAMPO OSCURO, GALIUM -HEEL®, OSSIGENOTERAPIA

SUMMARY: Pluripotent cells are immature high proliferative cells, different from all types of cells existing in the body, and capable of renewing. From embryos, fetuses, and more recently from adult cells (both heterologous and autologous) it may be obtained pluripotent cells capable of regenerating different tissues, even outside the germ layer, through transdifferentiation.

Blood and adipose tissue are the tissues available for state-of-the-art trials, with the advantage for the blood pluripotent cells of different origins, hematopoietic and stromal cells.

In the current research, effects are observed on the blood mobilization (diluted and dynamised) with oxygen and Galium-Heel®.

– We observed greater longevity and resistance to erythrocyte lysis, oxidation aging, visible in dark field microscope after 15, 30, 60, and 1,440 minutes and the ability to activate an Autologous Pluripotent Cells Transplantation valuable in the field of orthopedics and rehabilitation, but also vascular and immunologic.

KEY WORDS: PLURIPOTENT CELLS, AUTOLOGOUS BLOOD TRANSPLANT, DARK FIELD MICROSCOPY, GALIUM-HEEL®, OXYGEN THERAPY

EMOTERAPIA RIGENERATIVA. ATTIVAZIONE DELLE CELLULE PLURIPOTENTI CON TERAPIE BIOLOGICHE

– PRIMA PARTE

REGENERATIVE EMOTHERAPY. PLURIPOTENT CELLS ACTIVATION WITH BIOLOGICAL THERAPIES

– FIRST PART

STORIA E STATO DELL'ARTE

Le **cellule pluripotenti** sono cellule immature ad alto potenziale proliferativo in grado di rinnovarsi attraverso la divisione cellulare (per fissione binaria) a tempo indeterminato, generando tipi cellulari specializzati e cellule indifferenziate (TAB. 1).

– Fonte di “eterna giovinezza” e di autorinnovamento, le cellule pluripotenti sono – attualmente – al centro di una ricerca affascinante, iniziata circa mezzo secolo fa e sempre più enfatizzata negli ultimi 10-15 anni.

La scoperta dell'esistenza delle cellule pluripotenti adulte risale alla fine dell'800.

– In particolare essa è riconducibile all'osservazione che le cellule del sangue **si rinnovano ciclicamente** durante l'intero arco di vita dell'organismo.

Solo negli anni '60 dello scorso secolo è stata formulata l'ipotesi che esistesse una popolazione di cellule indifferenziate, residenti nel midollo osseo, ed aventi la funzione di “serbatoio” da cui derivano gli elementi corpuscolati del sangue.

– Dal 1950 al 1962 il Dr. John Gurdon, docente di Biologia Cellulare all'Università di Cambridge - UK, sperimentando sull'uovo di rana, scopre che una cellula adulta può “*perdere la propria identità*” ed essere riprogrammata per specializzarsi in un tipo di cellula **completamente diverso**.

Nel suo esperimento più famoso lo scienziato britannico sostituisce il nucleo di un uovo di rana con quello di una cellula intestinale adulta.

Una volta inserito nell'ovulo, il nucleo della cellula adulta ha ricevuto una serie di stimoli facendola ritornare immatura ed indifferenziata.

Nome	Sede	Potenziale differenziativo	Referenza
Cellule staminali neurali	Cervello	Tessuto nervoso	Gage, 2000
Mesangioblasti	Vasi sanguigni	Fibre muscolari	Cossu, 2003
Cellule staminali satelliti	Tessuto muscolare	Fibre muscolari	Cao, 2004
Cellule staminali epatiche	Fegato	Cellule epatiche	Alison, 2005
Cellule staminali mesenchimali	Midollo osseo	Tessuto adiposo e Tessuto connettivo	Porada, 2006
Cellule staminali epidermiche	Follicolo pilifero	Tessuto epidermico e Tessuto nervoso	Hoffman, 2006
Cellule staminali emopoietiche	Midollo osseo	Cellule sanguigne	Huang, 2007

TAB. 1

Principali classi di cellule staminali adulte dei Mammiferi.

– Sono indicati l'organo dove risiedono ed i principali prodotti del loro differenziamento.

Il suo sviluppo è ripartito seguendo una strada diversa; dall'ovulo è nato un girino (clonazione o SNCT – *Somatic Nuclear C Transfert*).

Nel 1997 fu clonata la pecora Dolly, il primo grande Mammifero a partire da una cellula adulta.

Questo risultato è stato rapidamente riprodotto in altri Mammiferi, tra cui topi (1), bovini (2,3), suini (4), capre (5), conigli (6), gatti (7), muli (8), cavalli (9), ratti (10) e cani (11).

► Da allora si sono intensificate numerose ricerche: nel nuovo Millennio queste hanno posto le basi della cosiddetta "medicina rigenerativa".

– Da quel momento numerosi Gruppi di ricerca si sono dedicati allo studio delle cellule pluripotenti non solo embrionarie, ma anche adulte (ASC) e sono state condotte indagini precliniche su modelli animali per la terapia cellulare in Tessuti danneggiati o malati.

Alcuni esempi di potenziali applicazioni terapeutiche delle ASC includono la sostituzione dei neuroni dopaminergici nell'encefalo dei malati di morbo di Parkinson, il trapianto di cellule capaci di produrre insulina (cellule beta) nei pazienti con diabete tipo 1, la

ripopolazione del Tessuto muscolare scheletrico in pazienti affetti da distrofia muscolare di Duchenne attraverso l'iniezione di precursori del muscolo scheletrico da donatore sano, oppure modificati geneticamente, e la riparazione del muscolo cardiaco in seguito a infarto del miocardio mediante l'iniezione di cellule muscolari cardiache (12).

– Nel 2006 le ricerche del Prof. Shinya Yamanaka dell'Università di Kyoto - Giappone hanno arricchito e completato la ricerca di riprogrammazione cellulare mettendo a punto il cocktail di geni che permette la trasformazione di una cellula adulta in una cellula "bambina", definita cellula staminale riprogrammata indotta (IPS).

Questa scoperta gli è valso sia il Premio Wolf (2011), sia il premio Nobel (2012), entrambi per la Medicina (13).

Nell'aprile del 2009 è stato dimostrato che è possibile la generazione di cellule pluripotenti indotte senza alcuna alterazione genetica della cellula adulta: il trattamento ripetuto con alcune proteine inserite nella cellula tramite ancore di poli-arginina è sufficiente ad indurre la pluripotenza cellulare (14).

Al Policlinico di Modena è stata curata

una malattia genetica della pelle utilizzando cellule pluripotenti dello stesso paziente con risultati significativi.

A Roma, presso L'Istituto di Chirurgia Plastica dell'Università La Sapienza, è stata ricostruita in laboratorio la pelle completa (tutti gli strati) utilizzando 3 diversi tipi di cellule pluripotenti prelevate da pazienti (cheratinociti, fibroblasti e melanociti).

– Il 9 Aprile 2013, presso l'Ospedale Pediatrico dell'Illinois - USA, è stato effettuato il primo trapianto al mondo di trachea con cellule pluripotenti in Hannah, nata senza trachea.

FONTI DI CELLULE PLURIPOTENTI

Le fonti attraverso cui è possibile ottenere cellule pluripotenti o multipotenti sono:

1. embrioni umani allo stadio iniziale di blastocisti (embrioni soprannumerari isolati e coltivati);
2. tessuti fetali ottenuti da gravidanze interrotte (staminali da regioni con organi genitali maschili e femminili);
3. una comune cellula uovo, rimuovendone il nucleo, con la cosiddetta SCNT (*Somatic Cell Nuclear Transfer*) o clonazione terapeutica.
– L'ovocita, così privato del nucleo, viene "fuso" con una normale cellula somatica: ne risulta una cellula totipotente, in grado di svilupparsi in un intero organismo;
4. cellule pluripotenti adulte [trapianto autologo o eterologo (oggetto del presente studio)];
5. cellule pluripotenti vegetali meristematiche (per il momento utilizzate quasi esclusivamente in cosmetologia, in differenti creme rigenerative, potenzialmente interessanti, come vedremo di seguito).

PRESENZA E REPERIMENTO DI CELLULE PLURIPOTENTI ADULTE

Le cellule pluripotenti adulte/somatiche sono state identificate a livello di vari organi e Tessuti quali il **midollo osseo**, il **sangue**, il **pancreas**, l'**osso**, la **cartilagine**, il **fegato**, la **cute**, il **Sistema nervoso** e il **Tessuto adiposo**.

La maggiore conoscenza dei loro meccanismi rigenerativi deriva dallo studio del Tessuto emopoietico.

I ricercatori hanno scoperto che il midollo osseo contiene **almeno due tipi** di cellule pluripotenti.

La prima popolazione scoperta, le *cellule staminali emopoietiche*, dà origine a tutte le cellule del sangue.

Pochi anni dopo fu scoperta una seconda popolazione, quella delle *cellule stromali* del midollo osseo.

Questa è una popolazione cellulare mista che genera l'osso, la cartilagine, il grasso e il Tessuto connettivo fibroso.

– Riteniamo che il **sangue potrebbe contenerne altre**.

Oltre alle due precedenti popolazioni vi sono anche quelle di produzione epatica e, in condizioni flogistiche, i mesangioblasti di alcune altre linee.

– Conferme della nostra ipotesi derivano dalla capacità migratoria che permette alle cellule pluripotenti adulte di raggiungere il *sito bersaglio*.

Per coprire grandi distanze le cellule ricorrono al Tessuto ematico, così da poter avere un rapido e capillare accesso a tutto l'organismo.

Gli organi bersaglio le catturano grazie alle complesse interazioni con particolari cellule endoteliali che permettono la fuoriuscita dal circolo sanguigno e la finale rigenerazione tissutale.

– Altre volte, invece, le cellule pluripotenti si muovono direttamente grazie a movimenti ameboidi, attraverso gli spazi interstiziali del parenchima (15).

I processi molecolari alla base di que-

sta migrazione sono molteplici come ad esempio quello della citochina SDF1 α , che funziona da attrattore della cellula pluripotente, legandosi al suo recettore CXCR4, prodotta e secreta nelle regioni che devono essere rigenerate.

È stata dimostrata sperimentalmente l'implicazione di questa via nella rigenerazione di numerosi organi come fegato, muscolo e cervello (16, 17, 18).

CARATTERISTICHE E FUNZIONI DELLE CELLULE PLURIPOTENTI

Caratteristiche:

- **Proliferazione** (crescita rapida, metabolismo elevato).

Come negli studi sulla neurogenesi e sull'attività fisica rapida stimolante il GH, gli stessi fattori di crescita che regolano lo sviluppo dei precursori embrionali potrebbero controllare la proliferazione dei progenitori nel SNC maturo.

Per esempio, il Fattore di Crescita Epi-dermico (EGF) stimola la proliferazione di cellule multipotenti sia nel SNC embrionale sia nel SNC adulto.

Anche il Fattore di Crescita Fibroblastico basico (bFGF) stimola la proliferazione di vari precursori embrionali neurali.

– Recentemente, è stato osservato che le cellule staminali isolate dal corpo

striato del topo adulto e coltivate *in vitro*, generano precursori che proliferano quando esposti al bFGF.

- **Auto-rigenerazione** (autoduplicazione indifferenziata; divisione simmetrica e asimmetrica).

Gli studi sul midollo osseo di Becker and Siminovitch (1963) dimostrano la capacità delle cellule staminali di effettuare un numero illimitato di cicli replicativi, mantenendo lo stesso stato differenziativo (differenziamento stocastico).

- **TransDifferenziazione** (transdifferenziamento tra i foglietti embrionali o Plasticità).

Alcune cellule staminali adulte, oltre a differenziarsi nei tipi cellulari specializzati derivanti dal foglietto embrionale di appartenenza (il cosiddetto differenziamento ortodosso), hanno la capacità di generare cellule specializzate di Tessuti diversi (differenziamento non ortodosso). Alcuni scienziati americani hanno scoperto che nel midollo osseo del topo è presente una cellula staminale in grado di trasformarsi in altri tipi cellulari come quelle polmonari ed intestinali.

– Questo significa che – potenzialmente – le cellule staminali sono anche in grado di rigenerare i Tessuti danneggiati dalle malattie.

Si potrebbe, quindi, in futuro poter evitare di utilizzare i trattamenti anticancro (poco specifici e – soprattutto – dannosi per le parti sane dell'organismo).

FIG. 1

LE 5 POTENZE DELLE STAMINALI

- 1 TOTIPOTENZA (VEGETALI MERISTEMATICHE, ZIGOTE)
- 2 PLURIPOTENZA (EMBRIONI, SANGUE ?)
- 3 MULTIPOTENZA
- 4 OLIGOPOTENZA
- 5 UNIPOTENZA

OBIETTIVO... SALIRE DI POTENZA



FIG. 2



D'altro canto in Botanica a tutti è nota la *talea*, il trapianto di un ramo che può generare una pianta completa fertile. Anche i funghi, in forma di spore, hanno questa capacità.

Ricavate dalla parte terminale della radice o della gemma in crescita, le cellule staminali vegetali (cellule meristematiche) si dicono totipotenti, capaci di riparare qualsiasi tipo di Tessuto.

Le cellule staminali vegetali hanno la particolare caratteristica di riprodursi indefinitamente e di essere flessibili.

Riteniamo che proprio da questo aspetto derivi la particolare **longevità** della *Sequoia gigantea* Sherman ($\approx 2400-2700$ anni) e del *Pinus longaeva* (≈ 4765 anni), ed il loro straordinario **sviluppo** (fino a 110 mt di altezza).

– Le staminali vegetali possono stimolare le cellule presenti nel nostro organismo: pur non perdendo la loro potenzialità rigenerante e riparatrice, con il passare del tempo, rallentano la loro funzione di rinnovamento.

– Le popolazioni di cellule staminali delle piante sono due: una comprendente il meristema del germoglio apicale, l'altra il meristema della radice apicale; entrambi danno luogo alla formazione della pianta.

Il Tessuto meristemático o embrionale è costituito da cellule non ancora differenziate che permettono la formazione di tutti i Tessuti necessari alla pianta per svilupparsi (FIG. 2).

Il mantenimento di queste cellule staminali dipende anche dai segnali del microambiente o dai controlli epigenetici, analogamente a quanto avviene per le cellule staminali dei Mammiferi.

Le cellule staminali vegetali sono totipotenti perché mantengono la capacità di generare l'intera pianta: una volta differenziate, diversamente da quelle animali, conservano la pluripotenza.

È sempre più evidente che la coltivazione delle cellule staminali dipende dal microambiente.

Vi sono alcune eccezioni molto stimo-

• No Aging

Le cellule pluripotenti rimangono indifferenziate e – in alcuni casi – sembrano manifestare una sorta di “immortalità” biologica, come ad es. in ambiente basico e nel *core* delle cellule staminali neoplastiche.

POTENZIALITÀ REPLICATIVA O POTENZA

Autorevoli Autori hanno proposto la classificazione delle staminali in base alla loro varietà ed ampiezza rigenerativa (potenza) in **5 tipi** (TOTI-, PLURI-, MULTI-, OLIGO- e UNI- potenza) (FIG. 1).

Vengono qui analizzate le prime 3 di particolare interesse:

TOTIPIOTENZA

La capacità di produrre ogni cellula differenziata dell'organismo è definita **totipotenza**.

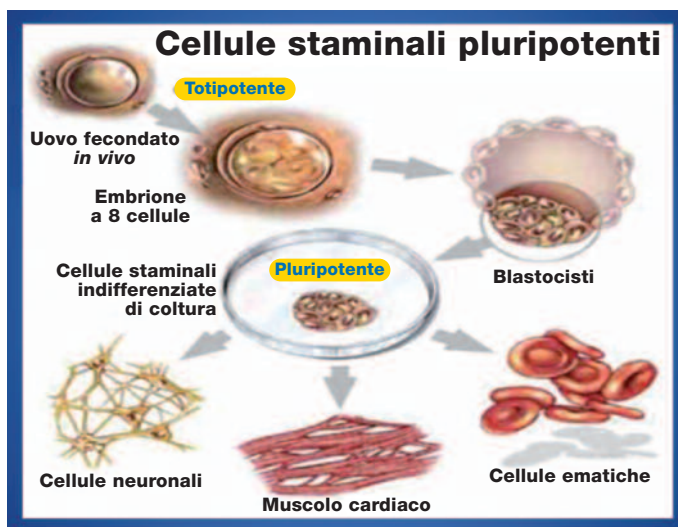
Essa permette di produrre qualsiasi Tessuto, compresi quelli embrionali ed extraembrionali.

– Si ritiene che nei Mammiferi lo zigote possieda questa capacità fino alla divisione a 4 cellule; già a partire dalla morula si *scenderebbe* di potenza.

Vi sono eccezioni: negli organismi vegetali *in vitro*, le cellule **già differenziate** possono riguadagnare la totipotenza.

– Queste ricerche risalgono al 1939 su *calli* di piante recise e cresciute in ambienti particolari.

FIG. 3



lanti nell'osservazione ambientale anche degli animali: la *Turritopsis nutricula*, piccola medusa di max 5 mm di diametro, ha la capacità transdifferenziativa e di rigenerazione periodica a Tessuti giovani ed embrionali, tanto da poter essere definita **immortale**.

– La recentissima scoperta (2013) – tutta italiana – è stata fatta dal Prof. Ferdinando Boero (Università di Lecce) e dal Dr. Stefano Piraino (CNR di Taranto).

PLURIPOTENZA

Vi sono esempi di pluripotenza (FIG. 3) e longevità straordinari negli animali: le lucertole ricostruiscono la coda, le salamandre gli arti.

Ma anche alcuni Mammiferi, come i canidi e i ruminanti possono ricostruire l'esofago. Alcuni studiosi ritengono che questa particolare *capacità* sia patrimonio evolutivo di tutte le specie viventi.

Le cellule pluripotenti possono essere isolate, adattate e si propagano indefinitamente *in vitro* in uno stato indifferenziato, come le cellule staminali embrionali (CSE o CES) che mantengono la capacità di differenziarsi in cellule dei tre foglietti embrionali: endoderma, mesoderma e ectoderma o qualsiasi dei 200 tipi cellulari presenti nell'organismo adulto.

Poiché molte malattie derivano da alterazioni di un singolo tipo cellulare, le cellule pluripotenti CES umane rappresentano una fonte illimitata di qualsiasi tipo di cellula o di Tessuto per la terapia sostitutiva, rappresentando potenzialmente una possibile cura per molte malattie devastanti.

Cellule pluripotenti simil CES possono anche essere ricavate sperimentalmente per la riprogrammazione nucleare delle cellule somatiche.

Le cellule somatiche riprogrammate possono svolgere un ruolo sempre più importante nelle terapie di sostituzione cellulare poiché le stesse cellule soma-

Emoterapia autologa rigenerativa

- Rigenera ossa, muscoli e articolazioni
- Attiva il Sistema immunitario
- Combatte i dolori acuti e cronici
- Rinnova i Tessuti



FIG. 4

tiche del paziente possono essere utilizzate per la riprogrammazione eliminando – così – il rigetto delle cellule trapiantate.

Le cellule pluripotenti possono dare origine a qualsiasi tipo di cellula fetale o adulta.

Tuttavia, una singola cellula o un conglomerato di cellule pluripotenti non possono trasformarsi in un animale feto o adulto perché non hanno la possibilità di organizzare un embrione.

MULTIPOTENZA

Le cellule progenitrici capaci di differenziarsi in un numero limitato di cellule dello stesso foglietto embrionario sono definite multipotenti, come le cellule neurali.

EPIGENETICA

È ormai generalmente riconosciuto che il materiale genetico è usualmente *non perso* durante il differenziamento e lo sviluppo. Di conseguenza, il processo di differenziazione deve riflettere l'espressione in ogni fase di un unico gruppo di geni specifici, il suo **trascrittoma**.

– Sembra che l'espressione di tale differenziale sia determinata o regolata da cambiamenti epigenetici reversibili gradualmente imposti sul genoma durante

lo sviluppo e dipendenti strettamente dall'ambiente *sensu lato*.

– Meccanismi epigenetici implicati nella regolazione dell'attività genica differenziale includono modificazioni degli istoni (acetilazione, metilazione, fosforilazione, ubiquitazione e ADP-ribosilazione) e la metilazione del DNA a CpG dinucleotidi (19, 20).

– Queste modificazioni epigenetiche specifiche regolano l'espressione o il silenziamento dei geni a livello trascrizionale.

MOBILIZZAZIONE

Il sangue periferico contiene cellule staminali emopoietiche (0,02% in media).

Per il trapianto eterologo la quantità non è sufficiente. È indispensabile, prima del prelievo, aumentare il loro numero.

– A tale proposito viene somministrato al donatore il fattore di crescita G-CSF (*Growth-Colony Stimulating Factor* = Fattore Stimolante la Crescita Cellulare). Tale fattore, prodotto anche dall'organismo, permette di rendere più rapida la crescita delle cellule staminali e di facilitarne il passaggio nel sangue periferico, consentendo la raccolta delle cellule staminali dal sangue periferico, anziché dalle creste iliache.

La stimolazione del midollo osseo, da parte del fattore di crescita G-CSF, può provocare alcuni disturbi reversibili, solitamente di lieve o moderata entità (febbre, cefalea, dolori ossei soprattutto in regione pelvica, lombare, agli arti, senso di affaticamento e perdita di appetito).

In un individuo sano, il G-CSF somministrato esplica il suo effetto nell'arco di 4-5 giorni di trattamento: è questo il momento previsto per la raccolta.

Gli sperimentatori hanno isolato dal sangue periferico, dopo mobilizzazione, cellule staminali/progenitrici ematopoietiche CD34+ e le hanno coltivate in presenza di una combinazione di citochine, stimolandole a proliferare ed espandersi "di diversi ordini di grandezza".

Quattordici giorni dopo la trasduzione virale delle cellule CD34+, sono emerse delle colonie; alcune di queste avevano *"una forma piatta e compatta ben distinta, con margini arrotondati e netti, caratteristici delle cellule staminali embrionali umane"*.

Queste linee cellulari esprimevano diversi marker tipici delle cellule pluripotenti, inclusi OCT4, SOX2, NANOG ed altri.

– Nel trapianto eterologo la mobilizzazione ha la funzione di moltiplicare le cellule pluripotenti per poterle coltivare.

TRAPIANTO AUTOLOGO – I VANTAGGI

- Minori rischi infettivi
- BioCompatibilità; riattivazione immunitaria
- Economicità
- No rigetto, no allergie, non necessità di farmaci a vita
- Praticità; maneggevolezza clinica ambulatoriale
- Nessun rischio oncogeno.

Per il **trapianto autologo**, la nostra esperienza (**emoterapia rigenerativa autologa**) ha dimostrato che la quantità è sufficiente **se il sangue viene ossigenato e sottoposto a succussione**.

Ciò ha determinato risultati clinici di rilievo in ambito ortopedico-traumatologico, nella riparazione di lesioni (ernie discali, rotture meniscali, traumi mal riparati) (**FIG. 4**) in oltre il 90% dei pazienti trattati.

Per l'ottenimento di risultati in ambiti ancora più impegnativi e per ampliare le indicazioni terapeutiche, è presumibilmente necessario aumentare la **quantità** e la **mobilizzazione del sangue**.

Si punta – infatti – a moltiplicare le cellule pluripotenti sia all'**esterno** che all'**interno** dell'organismo, cercando di favorire la loro moltiplicazione **in vivo** in un ambiente adeguato (mesenchima del paziente stesso).

È possibile tutto ciò con tecniche fisico-biologiche?

– Ci siamo indirizzati su questo filone di ricerca. □

Bibliografia

1. Wakayama T. *et al.* – Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature*. **1998**; 394(6691):369-374.
2. Kato Y. *et al.* – Eight calves cloned from somatic cells of a single adult. *Science*. **1998**; 282(5396):2095-2098.
3. Cibelli J.B. *et al.* – Cloned transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts. *Science*. **1998**; 280(5367):1256-1258.
4. Polejaeva I.A. *et al.* – Cloned pigs produced by nuclear transfer from adult somatic cells. *Nature (London)*. **2000**; 407(6800):86-90.
5. Baguisi A. *et al.* – Production of goats by somatic cell nuclear transfer. *Nat Biotechnol*. **1999**; 17(5):456-461.
6. Chesne P. *et al.* – Cloned rabbits produced by nuclear transfer from adult somatic cells. *Nat Biotechnol*. **2002**; 20(4):366-369.
7. Shin T. *et al.* – A cat cloned by nuclear transplantation. *Nature*. **2002**; 415(6874):859.
8. Woods G.L. *et al.* – A mule cloned from fetal cells by nuclear transfer. *Science*. **2003**; 301(5636):1063.
9. Galli C. *et al.* – Pregnancy: a cloned horse born to its dam twin. *Nature*. **2003**; 424(6949):635.
10. Zhou Q. *et al.* – Generation of fertile cloned rats by regulating oocyte activation. *Science*. **2003**; 302(5648):1179.
11. Lee B.C. *et al.* – Dogs cloned from adult somatic cells. *Nature*. **2005**; 436(7051):641.
12. Weissman I.L. – Stem cells. Units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell*. **2000**; 100,1, pp.157-68.
13. Yamanaka S. – Strategies and new developments in the generation of patient-specific pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*. **2007**; 1,1, 39-49.
14. Hongyan Z., Shili W., Jin Young J., Saiyong Z., Dong Wook H., Tongxiang L. – Generation of Induced Pluripotent Stem Cells Using Recombinant Proteins. *Cell Stem Cell*. **2009**; 4(5): 381-384.

15. Laird D.J., von Handrian U.H., Wagers A.J. – Stem Cell Trafficking in Tissue Development, Growth, and Disease. *Cell*. **2008**; 132: 612-630.
16. Broxmeyer H.E., Orschell C.M., Clapp D.W., Hangoc G., Cooper S., Plett P.A., Liles W.C., Li X., Graham-Evans B., Campbell T.B. – Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist. *J Exp Med*. **2005**; 201:1307-1318.
17. Imitola J., Raddassi K., Park K.I., Mueller F.J., Nieto M., Teng Y.D., Frenkel D., Li J., Sidman R.L., Walsh C.A., Snyder E.Y., Khoury S.J. – Directed migration of neural stem 84 cells to sites of CNS injury by the stromal cell-derived factor 1alpha/CXC chemokine receptor 4 pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*. **2004**; 101(52):18117-22.
18. De Paepe B., Schroder J.M., Martin J.J., Racz G.Z., De Bleecker J.L. – Localization of the alpha-chemokine SDF-1 and its receptor CXCR4 in idiopathic inflammatory myopathies. *Neuromuscul Dis*. **2004**; 14:265-273.
19. Gan Q. *et al.* – Concise review: epigenetic mechanisms contribute to pluripotency and cell lineage determination of embryonic stem cells. *Stem Cells*. **2007**; 25(1):2-9.
20. Jenuwein T., Allis C.D. – Translating the histone code. *Science*. **2001**; 293(5532):1074-1080.

N.d.R.:

La seconda ed ultima parte dell'articolo sarà pubblicata in *La Medicina Biologica* 2014/2.

Testo ed immagini elaborate dalla relazione dell'autore presentata al 16° Incontro del Club dell'Omotoscologia, Napoli 18-19 Maggio 2013.

N.d.R.:

Dello stesso autore consultare:

Bianchi R. – Emoterapia autologa rigenerativa con medicinali omotossicologici. Possibili fattori di crescita e cellule staminali. *La Med. Biol.*, **2009**/3; 13-23.

www.medibio.it → **La Medicina Biologica**

Riferimento bibliografico

BIANCHI R.A. – Emoterapia rigenerativa. Attivazione delle cellule pluripotenti con terapie biologiche.
– Prima parte
La Med. Biol., **2014**/1; 37-42.

autore

Dr. Roberto Antonio Bianchi

– Specialista in Medicina Preventiva
– Specialista in Medicina del Lavoro
Direttore Sanitario c/o Casasalute,
Clinica di Terapie naturali e biologiche

Via Castelleone, 60
Costa S. Abramo, Castelveverde (CR)