



Vita futura®

*Servizio di raccolta, separazione e crioconservazione
delle cellule staminali ematopoietiche prelevate dal
sangue del cordone ombelicale*







***è... donare ad ogni mamma
la certezza
di poter dare ai propri figli
un domani***

***Crediamo nelle potenzialità
di un progetto
che regali la
serenità
ad ogni genitore***

***Crediamo nelle possibilità
della scienza e della tecnologia***

Crediamo nel futuro...

Le cellule staminali

Le cellule staminali costituiscono una delle frontiere più promettenti della medicina moderna.

Le staminali rappresentano lo stadio primitivo, in cui le cellule non si sono ancora completamente specializzate e possono quindi “imparare” a comportarsi in modi diversi per assumere funzioni differenti all'interno dell'organismo.

La loro classificazione è ancora confusa poiché la scoperta delle cellule staminali è relativamente recente: negli anni '60 Joseph Altman e Gopal Das del MIT (Massachusetts Institute of Technology) presentarono una serie di studi sulla neurogenesi delle cellule staminali adulte (1-2-3-4-5).

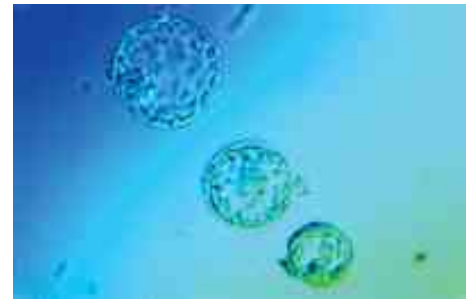


Fig. 1: Cellule staminali (microscopia elettronica)

Le prime staminali ematopoietiche furono invece isolate, dal sangue del cordone ombelicale, nei laboratori dell'UCLA (University of California, Los Angeles) nel 1978, da David W. Golde (6).

Successivamente nel 2002 l'inglese Austin Smith (7-8) propose la classificazione, anche da noi adottata, delle cellule staminali (EuroStemCell European Consortium for Stem Cell Research).

Le caratteristiche che distinguono le staminali dalle cellule differenziate, che hanno funzioni ben specifiche sono:

- “**autorinnovamento**”, ovvero la capacità di compiere un numero illimitato di cicli replicativi, senza modificare il loro stato di differenziazione
- “**potenza**”, ovvero la capacità di specializzarsi, trasformandosi in cellule altamente differenziate

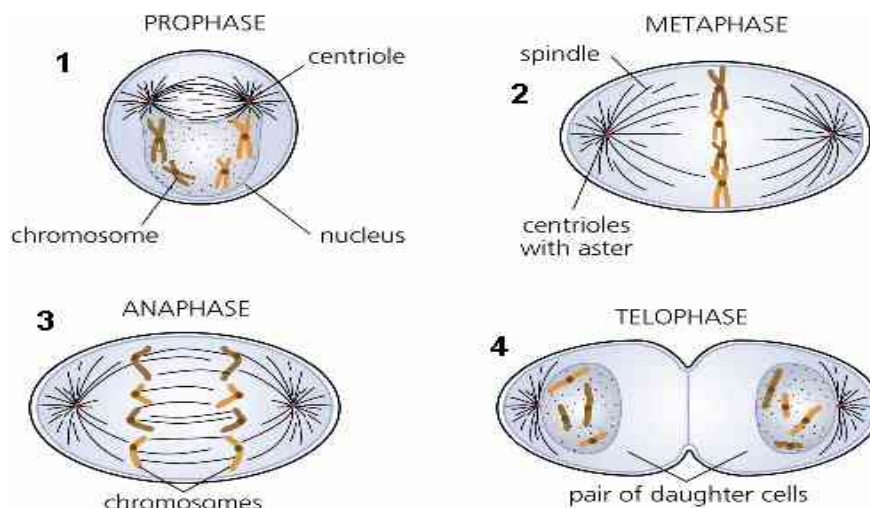


Fig. 2: Mitosi cellulare simmetrica

All'interno dell'organismo le cellule staminali sono normalmente allo stato quiescente e raramente vanno in mitosi simmetrica per replicarsi.

Le staminali operano di norma attraverso una mitosi asimmetrica, generando cellule specializzate (cellule progenitrici), non autorinnovabili ma che proliferano in grandi quantità, deputate alla riparazione dei tessuti.

Si pensa che questa strategia sia messa in atto dall'organismo per preservare il patrimonio genetico delle staminali da potenziali rischi di errore di replicazione.

L'unico caso in cui le staminali si replicano rapidamente, con mitosi simmetrica, è durante lo sviluppo embrionale.

Tramite opportuni segnali chimici è però già possibile indurre la mitosi simmetrica.

Tali attivatori sono ancora in fase di sperimentazione per le cellule umane, ma vengono già ampiamente utilizzati, in ambito veterinario, per la proliferazione delle cellule staminali.

In base alla “potenza” le cellule staminali si distinguono in:

- “**totipotent**”, che generano qualsiasi tipo di tessuti dell'organismo, compresi tessuti extraembrionali (è una caratteristica dei blastomeri)
- “**pluripotent**”, che generano qualsiasi tipo di tessuti dell'organismo, ma non tessuti extraembrionali (ad esempio le cellule prelevate dall'interno della blastocisti)
- “**multipotent**”, che generano tutti i tipi di cellule che compongono un determinato tessuto (ad esempio le ematopoietiche, derivate dal sangue del cordone ombelicale)
- “**oligopotent**”, che generano un numero limitato di tipi di cellule che compongono un determinato tessuto
- “**unipotent**”, che generano un unico tipo di cellule (ad esempio quelle che generano gli spermatozoi)

Si noti che già dal sesto giorno di gestazione le cellule dell'embrione diventano staminali multipotenti e che sono allo studio tecniche per trasformare cellule unipotenti da un tipo ad un altro.

Le cellule staminali si distinguono anche in:

- “**embrionali**”, ottenute da blastomeri prelevati dalla parte interna della blastocisti e moltiplicate in coltura
- “**adulte**”, prelevate da organismi con cellule già specializzate
Le cellule prelevate dal sangue del cordone ombelicale rientrano in questa categoria poiché le cellule del feto iniziano a specializzarsi già dal sesto giorno di gestazione

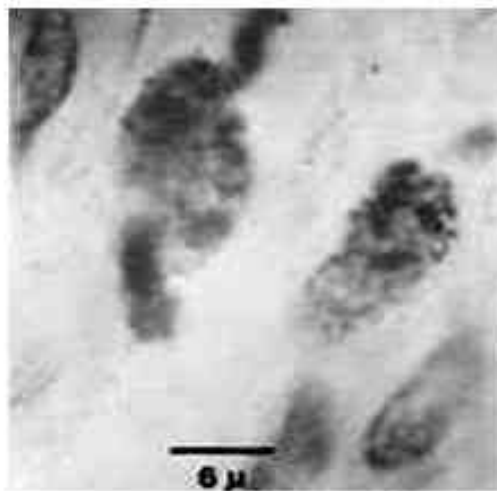


Fig. 3 Mitosi asimmetrica (microscopia elettronica)

L'uso di cellule staminali embrionali solleva notevoli problemi etici perchè per prelevarle occorre distruggere la blastocisti e quindi il futuro feto.

Distruggendo la blastocisti è impossibile avere cellule staminali embrionali autologhe e quindi esiste il problema del rigetto, quando vengono utilizzate.



Fig. 4 Blastocisti
(microscopia elettronica)

Le cellule staminali derivate dal sangue del cordone ombelicale

Dal sangue del cordone ombelicale si possono derivare cellule staminali ematopoietiche, che possono generare qualsiasi cellula del sangue (le stesse che si possono ricavare dal midollo osseo).

Ci si potrebbe chiedere quindi che senso abbia ricavarle dal sangue del cordone ombelicale per poi affrontare un costoso processo di immagazzinamento a bassissima temperatura (crioconservazione)

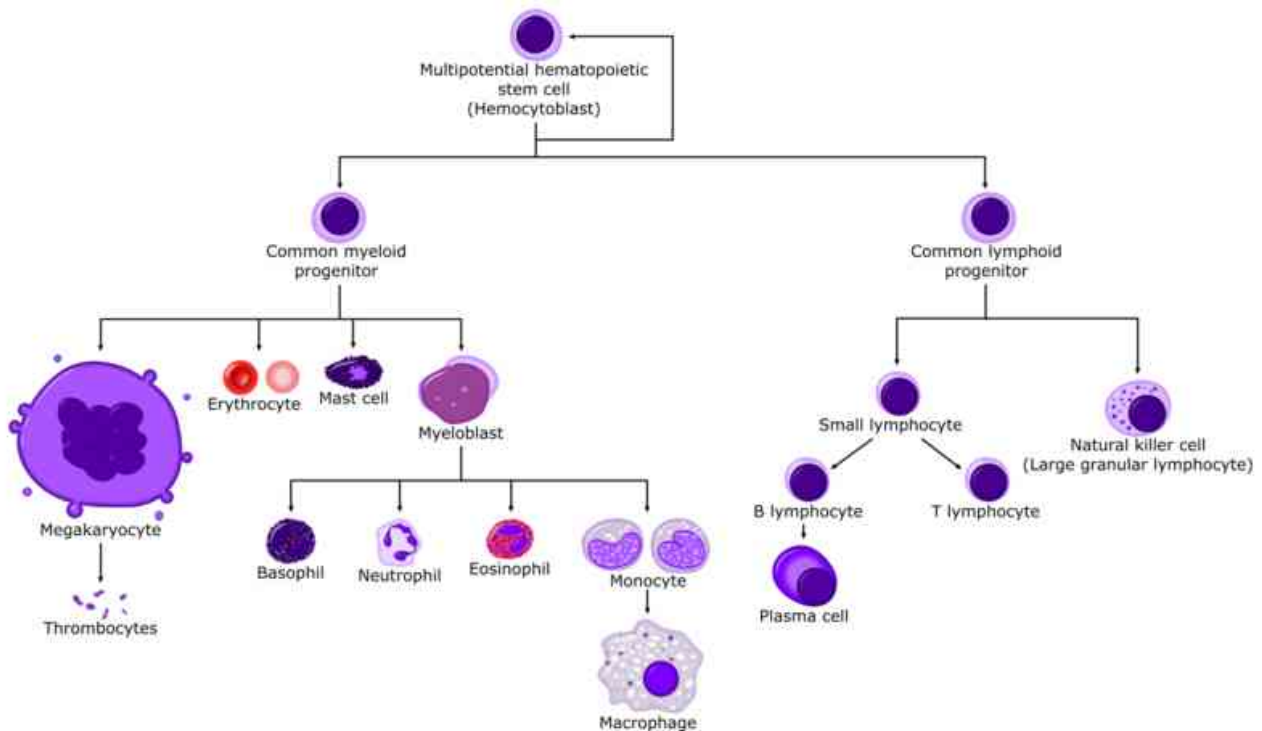


Fig. 5 “albero genealogico” delle cellule ematopoietiche

E' stato scientificamente provato che l'efficienza con cui le cellule si riproducono è tanto più alta quanto più è giovane l'individuo da cui vengono prelevate, e che l'efficienza riproduttiva delle cellule dipenda dall'età lo si può facilmente verificare osservando quanto sia più rapida la cicatrizzazione delle ferite nei bambini molto piccoli rispetto a quanto avviene negli individui adulti.

Questa osservazione dimostra che è molto meglio utilizzare cellule staminali ematopoietiche, derivate dal sangue del cordone ombelicale, piuttosto che quelle derivate dal midollo osseo di un individuo adulto, come dimostrano gli studi di Francesco Frassoni e collaboratori del Centro Cellule Staminali e Terapia Cellulare, Ospedale San Martino - Genova (38).

Sono in corso numerosi studi per indurre la pluripotenza nelle staminali ovvero la possibilità di generare qualsiasi tipo di cellule dell'organismo. In uno studio pubblicato nell'Aprile 2008 su PNAS (Proceedings of the national academy of sciences), lo statunitense W. E. Lowry e collaboratori (9) hanno dimostrato la possibilità di trasformare i fibroblasti in cellule staminali pluripotenti, in grado di curare il morbo di Parkinson nei topi di laboratorio.

E' quindi molto probabile che in un prossimo futuro le cellule staminali ematopoietiche possano avere un campo applicativo molto più ampio di quello attuale, che è limitato alle malattie del sangue, ed essere utilizzate per terapie efficaci in virtù della loro efficienza intrinseca, molto maggiore rispetto a quella delle staminali, prelevate da soggetti adulti.

Il prelievo delle cellule staminali da cordone ombelicale non comporta alcun rischio, né per il neonato né per la madre.

Va tenuto presente che, se non utilizzato, il sangue contenuto nel cordone ombelicale verrebbe comunque distrutto col suo prezioso carico di staminali "giovanissime". Appare quindi molto sensata la conservazione delle staminali in esso contenute, anche in previsione delle scoperte scientifiche che verranno in futuro e che ne amplificheranno enormemente l'utilizzo terapeutico.



Fig. 6 Clampaggio e sezione del cordone ombelicale

Conservazione eterologa o autologa?

Le cellule staminali estratte dal sangue prelevato dal cordone ombelicale possono essere conservate per lunghi periodi di tempo (più di trent'anni) in apposite strutture di deposito (banche di crioconservazione) in grado di assicurare che le cellule staminali vengano mantenute ad una temperatura compresa tra -170°C e -190°C per tutto il tempo di conservazione.

Esse possono venire immagazzinate con l'intento di metterle a disposizione della comunità (conservazione **eterologa** o allogenica) oppure per **utilizzo privato** (conservazione **autologa**).

La legislazione italiana attualmente vigente impedisce che le banche per la conservazione del sangue prelevato dal cordone ombelicale abbiano scopo di lucro e che parimenti la conservazione autologa gravi sul bilancio pubblico, quindi di fatto impedisce la creazione di banche autologhe sul territorio italiano.

Le leggi italiane però riconoscono il diritto all'autodeterminazione della madre e quindi non impediscono la conservazione autologa presso banche di crioconservazione, ubicate all'estero.

L'uso autologo delle cellule staminali è sconsigliabile solo nel caso in cui ci siano tare genetiche che potrebbero riproporre il problema che si cerca di eliminare con questo tipo di terapia

La **conservazione autologa** presenta diversi vantaggi:

- **il patrimonio genetico del donatore e del ricevente sono identici** se è la stessa persona oppure molto simile se si tratta di consanguinei, quindi i rischi di rigetto o non ci sono o vengono minimizzati; infatti, per evitare il rigetto, occorre instaurare trattamenti farmacologici che riducano l'attività del sistema immunitario e che quindi potrebbero essere un rischio per un soggetto già debilitato dalla malattia
- **non c'è il rischio di contrarre malattie da sangue infetto**; trattandosi di sangue omologo, proveniente dal soggetto stesso o da consanguineo. In casistica sono riportati casi in cui i controlli non sono stati effettuati col dovuto scrupolo in banche eterologhe, con conseguenze drammatiche
- c'è la sicurezza di avere **a disposizione subito le cellule staminali** e quindi aumenta la probabilità di successo nelle terapie di urgenza.
- non c'è il rischio di vedersi rifiutata la donazione nel fine settimana a causa della mancanza dei servizi di trasporto e stoccaggio nella banca eterologa.

Si noti che in oltre i due terzi dei trapianti vengono attualmente usate cellule staminali prelevate dal corpo del paziente, ovvero cellule staminali autologhe

10-year statistic:
132 963 transplantations

Allogeneic:
44 165

Autolog:
88 798

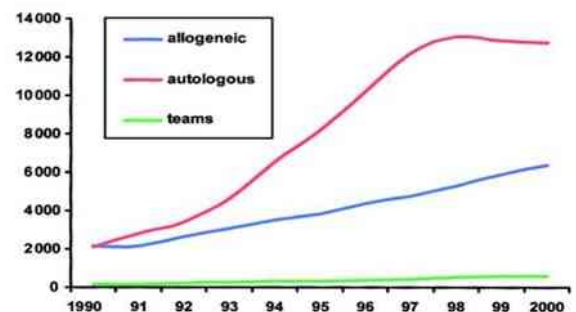


Fig. 7 Grafico dell'indagine statistica condotta da Gratwohl et al. (40)



Le future madri che scelgono la conservazione autologa del cordone ombelicale del nascituro in una banca di crioconservazione estera si trovano ad affrontare una procedura burocratica molto complessa proprio in un periodo della loro vita in cui dovrebbero essere serene.

Vitafutura si preoccupa di accompagnarle in questa esperienza in modo che non debbano preoccuparsi di nulla.

Tra le banche straniere abbiamo scelto di operare con chi è in grado di offrirci il meglio.

- **I nostri laboratori effettuano la separazione delle cellule staminali prima della conservazione:** ciò consente di preservarle in modo ottimale evitando che globuli rossi e piastrine si distruggano durante il congelamento, determinando un effetto tossico durante la fase di scongelamento, col rischio di danneggiare le cellule staminali. Questa fase iniziale di preparazione evita dannose procedure di separazione, immediatamente prima dell'utilizzo, che ridurrebbero la vitalità delle cellule staminali.
- **Vitafutura ha il suo Centro di crioconservazione a Francoforte, in Germania,** nel Deutsches Rotes Kreuz Hospital. Ciò offre una maggior sicurezza operativa legata sia alla grande esperienza dei laboratori della Croce Rossa Tedesca che alla possibilità di fare fronte ad eventuali situazioni di emergenza.
- **La nostra banca non opera in paesi extraeuropei** e deve quindi sottostare a leggi severe che regolano questa materia in ambito Europeo: ciò rappresenta una garanzia di serietà per Vitafutura e per i suoi clienti.
- **La nostra banca collabora attivamente con iniziative di ricerca sulle cellule staminali:** questo dà a Vitafutura la garanzia di avere un partner sempre al passo con le ultime scoperte scientifiche

Per assicurare una elevata qualità dei servizi ci avvaliamo di procedure interne e di strumenti informatici all'avanguardia, sviluppati e mantenuti internamente, che ci permettono di gestire il nostro database con la massima efficienza in modo da seguire costantemente tutta la filiera delle operazioni, senza possibilità di errori.

Per evitare la perdita di dati il nostro server è configurato in modalità RAID-1 e opera in modo da replicare i dati su un altro server, collocato in altra parte dell'edificio in modo da scongiurare il rischio della perdita dei dati in caso di guasti all'hardware. Al nostro database ha accesso la Direzione della Banca di Francoforte per completare i dati della filiera relativi alle operazioni effettuate presso le loro strutture.

La qualità del servizio è la nostra maggiore preoccupazione.

La partnership con la Croce Rossa Tedesca non è puramente commerciale ma mira ad affinare la nostra politica sia nel campo della qualità totale che in quello della preparazione scientifica: il nostro target è quello di fondare una banca di crioconservazione sul territorio italiano appena le leggi del nostro Stato lo consentiranno.

I partner scientifici di *Vitafutura*

Vitafutura è coinvolta attivamente in una rete di ricerca internazionale.

Tutti i Centri di crioconservazione di cellule staminali operano secondo il motto comune: "We translate research into therapy" ("traduciamo la ricerca in terapia"), con questo principio lavoriamo sempre nel rispetto delle più rigorose direttive di qualità europee e manipolano le cellule staminali con le tecniche più avanzate.

Siamo in grado di raggiungere standard così elevati proprio grazie alla collaborazione con una rete internazionale di medici e ricercatori.

I nostri Partner principali sono:

STELLACURE GmbH: Banca per la crioconservazione pubblica e privata delle cellule staminali, da cordone ombelicale, partecipata dalla Croce Rossa Tedesca



DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg - Hessen: Centro Emotrasfusionale della Croce Rossa Tedesca a Francoforte. E' il più importante Centro Europeo per la lavorazione e conservazione del sangue. E' anche uno dei più importanti Centri di Ricerca medica della Germania.



DHL Italia Cura il trasporto convenzionale del sangue del cordone ombelicale verso il centro emotrasfusionale di Francoforte, con professionalità e competenza, garantendo la consegna entro 48 ore in condizioni ottimali.



UMANITÀ
IMPARZIALITÀ
NEUTRALITÀ
INDIPENDENZA
VOLONTARIATO
UNITÀ
UNIVERSALITÀ

Croce Rossa Italiana Comitato Locale di Paderno Dugnano (MI). Cura il trasporto dedicato del sangue del cordone ombelicale verso il Centro Emotrasfusionale di Francoforte, con professionalità e competenza, garantendo, con mezzi dotati di camera termostatica, condizioni di trasporto ottimali e la consegna entro 48 ore nei giorni in cui il servizio di DHL non è disponibile

Dalla decisione della futura madre alla crioconservazione

Quando la futura madre decide di affidarsi a **Vitafutura**® per la raccolta e la successiva crioconservazione delle cellule staminali che verranno separate dal sangue del cordone ombelicale, del suo bambino, noi ci prendiamo in carico, con il massimo scrupolo, l'organizzazione di tutte le fasi della filiera.

Per prima cosa controlliamo che l'Ospedale, in cui andrà a partorire, sia abilitato al prelievo del sangue del cordone ombelicale, poi controlliamo nel database che l'Ospedale abbia una percentuale elevata di prelievi andati a buon fine (ciò significa che il personale medico e paramedico esegue scrupolosamente tutte le procedure di prelievo) ed eventualmente suggeriamo possibili alternative.

Quindi prepariamo ed inviamo la pratica a Roma, al Centro Nazionale dei Trapianti, che ci fornirà l'autorizzazione al prelievo.

Ottenuta l'autorizzazione prepariamo il kit per il prelievo del sangue cordonale con i documenti necessari, compilati a nostra cura, e lo affidiamo alla madre che lo porterà con se all'Ospedale.

Inseriamo nel nostro database lo scadenziario degli esami ematici, che deve eseguire la gestante per sincerarsi di non essere portatrice di patologie trasmissibili al feto: epatite B (HBV), epatite C (HCV), AIDS (HIV).

Ci accertiamo che la futura madre ritiri la certificazione della Direzione Sanitaria dell'Ospedale, in cui andrà a partorire, e la restituisca a Vitafutura.

Entrati in possesso del documento ci attiviamo per presentare la pratica al Ministero della Salute e ottenere il Nulla Osta al prelievo.



Fig. 8 Kit per il trasporto del sangue cordonale



Fig.9 Cordone ombelicale

La gestante porta con se il kit in Ospedale, informandoci della probabile data del parto.

All'atto del parto, lo staff medico effettua il prelievo sia di sangue materno che del sangue del cordone ombelicale del neonato, seguendo le istruzioni presenti nel kit, quindi ripone la sacca di raccolta e le provette nel sacchetto ermetico. Mette quindi il sacchetto ermetico nella borsa isotermica, che chiude con un sigillo, e chiama il corriere che si occupa del ritiro del kit in Ospedale e della sua consegna a Francoforte, ai laboratori della **Croce Rossa Tedesca (DRK)**, dove il sangue viene analizzato, separato e ne viene congelata a -190°C la frazione contenente le cellule staminali, che viene successivamente affidata a **Stellacure GmbH**, per la crioconservazione definitiva, in un locale del Centro Emotrasfusionale stesso.

Il kit è dotato di un sistema di registrazione della temperatura interna che permette di verificare se il trasporto viene eseguito in condizioni ottimali.

Lo spedizioniere di cui ci avvaliamo è certificato OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità), per il trasporto aereo (IATA-P650) e su strada (ADR) di materiale biologico.

Il nostro contratto con lo spedizioniere impone che il trasporto venga effettuato entro 40 ore per restare con sicurezza all'interno della finestra di 48 ore, termine massimo stabilito dalle procedure di qualità del trattamento. Questo anche nei fine-settimana, periodo in cui ci avvaliamo di servizi dedicati, come quello della **Croce Rossa Italiana** o quello della **Pubblica Assistenza Niguarda**, in quanto DHL non svolge, nei fine-settimana e nelle festività, il servizio di trasporto e consegna di materiale biologico.



Fig.10-11-12 fasi della preparazione del sangue in laboratorio

Quando il kit giunge nei laboratori della **Croce Rossa Tedesca (DRK)**, viene aperto e il sangue cordonale viene trattato in condizioni totalmente sterili da macchine a circuito chiuso che non permettono al sangue di venire a contatto con l'ambiente esterno. Queste macchine permettono di trattare il sangue in conformità alle direttive Good Manufacturing Practices (GMP).



Fig.13 Analizzatore automatico del sangue

Le provette contenenti il sangue della madre vengono consegnate al laboratorio di analisi per la ripetizione degli accertamenti sull'assenza di patologie.

Dal sangue del cordone ombelicale, contenuto nella sacca, viene prelevata una piccola quantità per effettuare

il conteggio dei globuli bianchi e verificare se ci siano state contaminazioni batteriche durante il prelievo.

Nella macchina automatica viene effettuata una separazione selettiva del sangue del cordone ombelicale in base al coefficiente di sedimentazione, sfruttando la diversa densità dei componenti ematici, per ottenere una concentrazione di cellule della serie bianca, contenenti le preziose cellule staminali ematopoietiche.

La separazione dei globuli bianchi è opportuna perchè i globuli rossi e i granulociti si rompono durante il processo di congelamento, rilasciando sostanze tossiche per le cellule staminali.

La frazione contenente le cellule staminali ematopoietiche viene quindi avviata al processo di congelamento.



Fig.14 Separatore automatico delle frazioni ematiche



Fig.15 frazioni ematiche



Fig.16 Posizionamento del sangue cordonale in quarantena

Il passaggio dalla temperatura ambiente iniziale, attorno ai 22°C, a quasi -190°C, distruggerebbe le cellule staminali a causa della formazione di voluminosi cristalli di ghiaccio che ne romperebbero la membrana. Per tale motivo viene aggiunta una opportuna miscela di sostanze chimiche protettive come il DMSO (dimethylsulfoxide) e il glicerolo, che impediscono la crescita dei cristalli di ghiaccio.

L'abbassamento di temperatura viene effettuato in una macchina speciale che controlla l'andamento della temperatura nel tempo in modo da realizzare un profilo di congelamento ottimale che preservi le membrane cellulari dalla rottura.

Le cellule staminali non vengono congelate tutte assieme ma suddivise in diversi contenitori in modo da poterne utilizzare all'occorrenza solo una parte e mantenere il resto per eventuali terapie successive, che dovessero risultare necessarie.

Dopo essere state congelate, le cellule staminali vengono messe in quarantena in un contenitore raffreddato con azoto in fase di vapore, in attesa che siano noti gli esiti degli esami condotti sul sangue della madre e su quello del cordone ombelicale del bimbo.

Una volta noti, gli esiti vengono registrati nel nostro database e comunicati alla madre.

Se si rilevano problemi relativi a contaminazioni, numero di staminali inferiore a quello minimo accettabile o altri eventuali problemi, la madre è libera di decidere se bancare comunque le staminali oppure evitare le spese di bancaggio e distruggerle.

Dopo la quarantena e il tacito consenso della madre, le cellule staminali vengono poste definitivamente nei contenitori, raffreddati ad azoto liquido, per rimanervi fino all'eventuale utilizzo.

Durata massima della crioconservazione

Esiste in letteratura medico-scientifica un'esperienza ormai pluridecennale nella crioconservazione delle cellule staminali.

Numerose équipes di ricercatori hanno potuto dimostrare che uno stoccaggio prolungato di cellule staminali cordonali non ha alcuna ripercussione sulla qualità del materiale cellulare stesso.

Le più recenti pubblicazioni hanno dimostrato che lo stoccaggio di cellule staminali in un arco di tempo di 15-20 anni non pregiudica la funzionalità delle cellule. Tutto ciò è stato ora ulteriormente confermato da D. Woodbury e da un gruppo di ricercatori della UMDNJ (Università di Medicina del New Jersey).

Secondo i loro studi (10), la durata dello stoccaggio ad una temperatura inferiore a 150 gradi



Fig.17 Trasferimento definitivo nei contenitori di stoccaggio

sotto zero non influisce in modo significativo sulla funzionalità delle cellule staminali.

In un studio pubblicato sulla rivista “Journal Molecular Reproduction and Development” è stato dimostrato che gli amniociti crioconservati a lungo termine mantengono la loro capacità di differenziarsi in vitro: sono state esaminate particolari cellule staminali, estratte dalla cavità amniotica, scongelate dopo più di 30 anni e poi stimolate a differenziarsi in tessuti connettivi, ossei e nervosi.

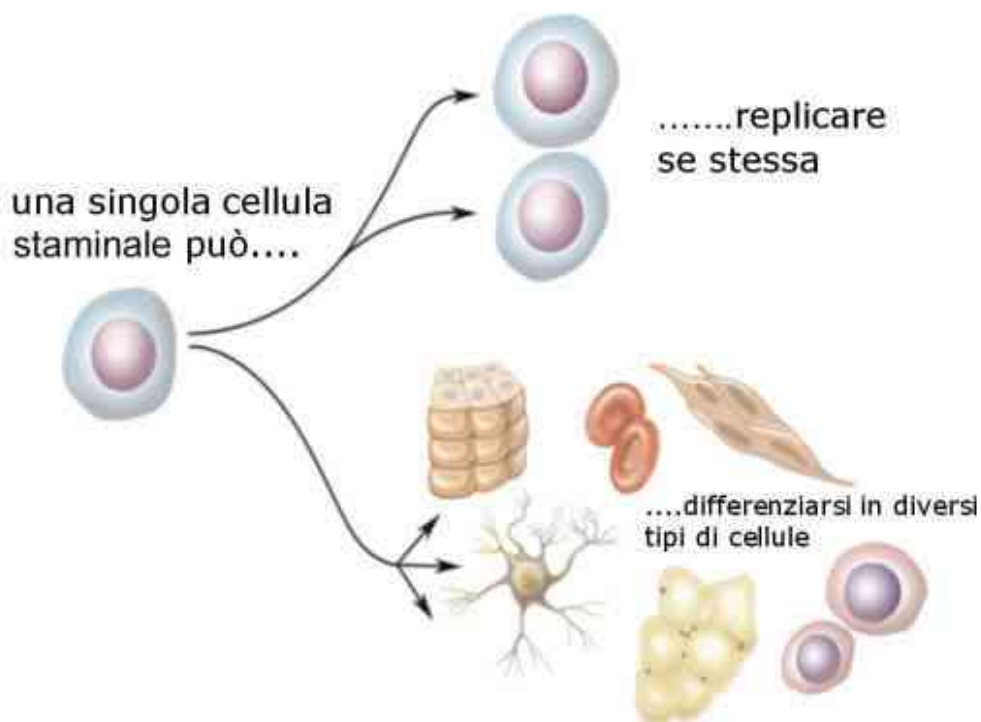
Molti scienziati di tutto il mondo sono fortemente convinti che le cellule staminali trattate delicatamente e congelate correttamente possano mantenere intatta la loro funzionalità per tutta la vita del donatore.

Impiego nell'individuo adulto

In passato è stato spesso messo in dubbio il fatto che la quantità di staminali estratte dal cordone ombelicale fosse sufficiente per il trapianto in un individuo adulto.

Ormai non esistono più dubbi: è possibile eseguire con successo un trapianto con una porzione di sangue cordonale su adulti anche gravemente obesi.

Di recente un gruppo di ricercatori belgi e statunitensi, guidati da H Schoemans, ha eseguito uno studio su un campione di 3.734 pazienti adulti, di cui 1.405 trattati con sangue cordonale. Questa pubblicazione rappresenta l'ennesima conferma che la conservazione del sangue cordonale costituisce una forma di prevenzione per tutta la vita anche nel trapianto di midollo osseo. (11)



Bibliografia

- (1) Altman, J., in Response of the Nervous System to Ionizing Radiation (edit. by Haley, T. J., and Snider, R. S.), 336 (Boston, Little, Brown, 1964).
- (2) Altman, J., - Autoradiographic investigation of cell proliferation in the brains of rats and cats - Anat. Rec.- 1963 - 145, 573.
- (3) Altman, J., Das GD. - Post-natal origin of microneurons in the rat brain - Nature. 1965 Aug 28;207(5000):953-6.
- (4) Altman, J., Das GD. - Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. (1). A longitudinal investigation of the kinetics, migration and transformation of cells incorporating tritiated thymidine in neonate rats, with special reference to postnatal neurogenesis in some brain regions - J. Comp. Neurol. - 1966 - 126, 337
- (5) Altman, J., - Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. (2). A longitudinal investigation of the kinetics, migration and transformation of cells incorporating tritiated thymidine in infant rats, with special reference to postnatal neurogenesis in some brain regions - J. Comp. Neurol. - 1966 - 128, 431
- (6) David W. Golde , et al. - Hematopoietic Cell Differentiation - Publisher Elsevier Health Sciences -1979
- (7) Tom Burdon, Austin Smith, Pierre Savatier. Signalling, cell cycle and pluripotency in embryonic stem cells. Trends in cell biology. 2002 Sep;12(9): 432-8
- (8) Jérôme Aubert, Hannah Dunstan, Ian Chambers, Austin Smith. Functional gene screening in embryonic stem cells implicates Wnt antagonism in neural differentiation. Nature biotechnology. 2002 Dec;20(12): 1240-5
- (9) Lowry W. E., et al. - Generation of human induced pluripotent stem cells from dermal fibroblasts - PNAS 2008 105:2883-2888
- (10) Woodbury D., et al. - Long-term cryopreserved amniocytes retain proliferative capacity and differentiate to ectodermal and meso-dermal derivatives in vitro - Mol Reprod Dev 2006 Nov - 73 (11) : 1463-72
- (11) Schoemans H., et al. - Adult umbilical cord blood transplantation: a comprehensive review - Bone Marrow Transplantation 2006 July - 38 (2) : 83-93
- (12) Ping Yu, Youjin Lee, Wenhua Liu, Robert K Chin, Jing Wang, Yang Wang, Andrea Schietinger, Mary Philip, Hans Schreiber & Yang-Xin Fu - Priming of naive T cells inside tumors leads to eradication of established tumors - Nature Immunology 5, 141 - 149 (2004)
- (13) Grisham, J. W. and Thorgeirsson, S. S. Liver stem cells. In: Potten, C. S. (Ed.): Stem Cells, Academic Press, London, 1997, 233-82.
- (14) Thorgeirsson, S. S. and Evarts, R. P. Growth and differentiation of stem cells in adult rat liver. In Sirica, A. E. (Ed.): The Role of Cell Types in Hepatocarcinogenesis, CRC Press, 1992, 110-20.
- (15) Woods W. G. - Unravelling mysteries of neuroblastoma - The Lancet, Volume 352, Issue 9129, Page 667, 29 August 1998
- (16) Birgit Ortner, Chiao-Wei Huang, Daniela Schmid, Ingomar Mutz, Günther Wewalka, Franz Allerberger, Jyh-Yuan Yang, Hartwig P Huemer. Epidemiology of enterovirus types causing neurological disease in Austria 1999-2007: detection of clusters of echovirus 30 and enterovirus 71 and analysis of prevalent genotypes. Journal of medical virology. 2009 Feb;81(2): 317-24

- (17) Sonja Koestenbauer, Nicolas H Zech, Herbert Juch, Pierre Vanderzwalmen, Luc Schoonjans, Gottfried Dohr. Embryonic stem cells: similarities and differences between human and murine embryonic stem cells. *American journal of reproductive immunology* (New York, N.Y. : 1989). 2006 Mar;55(3): 169-80
- (18) Astrid Blaschitz, Martin Gauster, Gottfried Dohr. Application of cryo-compatible antibodies to human placenta paraffin sections. *Histochemistry and cell biology*. 2008 Sep;130(3): 595-9
- (19) Alenka Kovacevic, Astrid Hammer, Elke Stadelmeyer, Werner Windischhofer, Monika Sundl, Alpina Ray, Natascha Schweighofer, Gerald Friedl, Reinhard Windhager, Wolfgang Sattler, Ernst Malle. Expression of serum amyloid A transcripts in human bone tissues, differentiated osteoblast-like stem cells and human osteosarcoma cell lines. *Journal of cellular biochemistry*. 2008 Feb 15;103(3): 994-1004
- (20) Ursula Hainz, Petra Obexer, Christiana Winkler, Peter Sedlmayr, Osamu Takikawa, Hildegard Greinix, Anita Lawitschka, Ulrike Pötschger, Dietmar Fuchs, Stephan Ladisch, Andreas Heitger. Monocyte-mediated T-cell suppression and augmented monocyte tryptophan catabolism after human hematopoietic stem-cell transplantation. *Blood*. 2005 May 15;105(10): 4127-34
- (21) Christian Klopsch, Dario Furlani, Ralf Gäbel, Wenzhong Li, Erik Pittermann, Murat Ugurlucan, Guenther Kundt, Christiana Zingler, Ulf Titze, Weiwei Wang, Lee-Lee Ong, Klaus Wagner, Ren-Ke Li, Nan Ma, Gustav Steinhoff. Intracardiac injection of erythropoietin induces stem cell recruitment and improves cardiac functions in a rat myocardial infarction model. *Journal of cellular and molecular medicine*. 2009 Apr;13(4): 664-79
- (22) Simone Hennerbichler, Rudolf Schmied, Erwin Petek, Peter M Kroisel, Barbara Pertl, Beate Tiran, Gottfried Dohr, Reinhold Wintersteiger, Peter Sedlmayr. Detection and relocation of cord blood nucleated red blood cells by laser scanning cytometry. *Cytometry*. 2002 Jun 1;48(2): 87-92
- (23) Nikolaos Bonaros, Rauend Rauf, Thomas Schachner, Günther Laufer, Alfred Kocher. Enhanced cell therapy for ischemic heart disease. *Transplantation*. 2008 Nov 15;86(9): 1151-60
- (24) Andrew J Boyle, Robert Whitbourn, Stephen Schlicht, Henry Krum, Alfred Kocher, Harshal Nandurkar, Steven Bergmann, Mark Daniell, Justin O'Day, Donna Skerrett, David Haylock, Richard E Gilbert, Silviu Itescu. Intra-coronary high-dose CD34+ stem cells in patients with chronic ischemic heart disease: a 12-month follow-up. *International journal of cardiology*. 2006 Apr 28;109(1): 21-7
- (25) Alicia Bárcena, Mirhan Kapidzic, Marcus O Muench, Matthew Gormley, Marvin A Scott, Jingly F Weier, Christy Ferlatte, Susan J Fisher. The human placenta is a hematopoietic organ during the embryonic and fetal periods of development. *Developmental biology*. 2009 Mar 1;327(1): 24-33
- (26) Yves Barde. Caution urged in trial of stem cells to treat spinal-cord injury. *Nature*. 2009 Mar 5;458(7234): 29
- (27) Viranuj Sueblinvong, Roberto Loi, Philip L Eisenhauer, Ira M Bernstein, Benjamin T Suratt, Jeffrey L Spees, Daniel J Weiss. Derivation of lung epithelium from human cord blood-derived mesenchymal stem cells. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2008 Apr 1;177(7): 701-11
- (28) Jia-Yi Li, Nicolaj S Christophersen, Vanessa Hall, Denis Soulet, Patrik Brundin. Critical issues of clinical human embryonic stem cell therapy for brain repair. *Trends in neurosciences*. 2008 Mar;31(3): 146-53
- (29) Patricia S Cho, Darin J Messina, Erica L Hirsh, Nina Chi, Stephanie N Goldman, Diana P Lo, Ian R Harris, Sicco H Popma, David H Sachs, Christene A Huang. Immunogenicity of umbilical cord tissue derived cells. *Blood*. 2008 Jan 1;111(1): 430-8
- (30) Colin H Martin, Petter S Woll, Zhenya Ni, Juan Carlos Zúñiga-Pflücker, Dan S Kaufman.

- Differences in lymphocyte developmental potential between human embryonic stem cell and umbilical cord blood-derived hematopoietic progenitor cells. *Blood*. 2008 Oct 1;112(7): 2730-7
- (31) Steve Goldman. Stem and progenitor cell-based therapy of the human central nervous system. *Nature biotechnology*. 2005 Jul;23(7): 862-71
- (32) Petter S Woll, Bartosz Grzywacz, Xinghui Tian, Rebecca K Marcus, David A Knorr, Michael R Verneris, Dan S Kaufman. Human embryonic stem cells differentiate into a homogeneous population of natural killer cells with potent in vivo antitumor activity. *Blood*. 2009 Jun 11;113(24): 6094-101
- (33) Hynek Wichterle, Ivo Lieberam, Jeffery A Porter, Thomas M Jessell. Directed differentiation of embryonic stem cells into motor neurons. *Cell*. 2002 Aug 9;110(3): 385-97
- (34) Yonggang Zhang, Liming Wang, Mingli Yang, Lin Huang, Huozhen Hu. Experimental study on culture of human mesenchymal stem cells from cord blood using autologous serum *Sheng wu yi xue gong cheng xue za zhi = Journal of biomedical engineering = Shengwu yixue gongchengxue zazhi*. 2008 Oct;25(5): 1155-60
- (35) Claudio G Brunstein, John E Wagner. Umbilical cord blood transplantation and banking. *Annual review of medicine*. 2006;57: 403-17
- (36) Paolo Pedrazzoli, Giovanni Rosti, Simona Secondino, Ornella Carminati, Taner Demirer, European Group for Blood and Marrow Transplantation, Solid Tumors Working Party, Gruppo Italiano per il Trapianto di Midollo Osseo, Cellule Staminali Emopoietiche e Terapia Cellulare. High-dose chemotherapy with autologous hematopoietic stem cell support for solid tumors in adults. *Seminars in hematology*. 2007 Oct;44(4): 286-95
- (37) Sara Pozzi, Daniela Lisini, Marina Podestà, Maria Ester Bernardo, Nadia Sessarego, Giovanna Piaggio, Angela Cometa, Giovanna Giorgiani, Tommaso Mina, Barbara Buldini, Rita Maccario, Francesco Frassoni, Franco Locatelli. Donor multipotent mesenchymal stromal cells may engraft in pediatric patients given either cord blood or bone marrow transplantation. *Experimental hematology*. 2006 Jul;34(7): 934-42
- (38) Francesco Frassoni, Marina Podesta, Rita Maccario, Giovanna Giorgiani, Gabriele Rossi, Marco Zecca, Andrea Bacigalupo, Giovanna Piaggio, Franco Locatelli. Cord blood transplantation provides better reconstitution of hematopoietic reservoir compared with bone marrow transplantation. *Blood*. 2003 Aug 1;102(3): 1138-41
- (39) Alberto M Marmont, Richard K Burt. Hematopoietic stem cell transplantation for systemic lupus erythematosus, the antiphospholipid syndrome and bullous skin diseases. *Autoimmunity*. 2008 Oct 28: 1
- (40) P Ljungman, A Urbano-Ispizua, M Cavazzana-Calvo, T Demirer, G Dini, H Einsele, A Gratwohl, A Madrigal, D Niederwieser, J Passweg, V Rocha, R Saccardi, H Schouten, N Schmitz, G Socie, A Sureda, J Apperley, European Group for Blood and Marrow. Allogeneic and autologous transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: definitions and current practice in Europe. *Bone marrow transplantation*. 2006 Mar;37(5): 439-49
- (41) Lucy E Richardson, Jayesh Dudhia, Peter D Clegg, Roger Smith. Stem cells in veterinary medicine--attempts at regenerating equine tendon after injury. *Trends in biotechnology*. 2007 Sep;25(9): 409-16



Vita futura srl

Via Vittorio Veneto 8 - 20030 Bovisio Masciago (MB)

Sito internet: www.vitafutura.it

Telefono (uffici): 0362 55 90 13

Telefono (informazioni): 02 303 127 984

Indirizzo di posta elettronica: posta@vitafutura.it

Contatto Skype: vitafutura.it

Contatto MSN: vitafutura.it@live.it

SMS: 334 505 44 17

Fax: 0362 60 99 06



Vitafutura®

Investi nella sua serenità...



tel. informazioni: **02.303.127.984** tel. uffici: **0362.55.90.13**
email: **posta@vitafutura.it** sito Internet: **www.vitafutura.it**