



IKER
GAZTE
NAZIOARTEKO
IKERKETA EUSKARAZ

I. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2015eko maiatzaren 13, 14 eta 15
Durango, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

OSASUNA

**Hortz mamiko ama zelulen
ezaugarri neuralen azterketa**

*J. Luzuriaga, I. Irastorza,
P. Gallastegi Garcia,
V. Uribe-etxeberria, M. Aurrekoetxea,
G. Ibarretxe eta F. Unda*

816-823 or.
<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.i.114>

ANTOLATZAILEA:



BABESLEAK:



LAGUNTZAILEAK:



Hortz mamiko ama zelulen ezaugarri neuralen azterketa

Luzuriaga J, Irastorza I, Gallastegi Garcia P, Uribe-etxeberria V, Aurrekoetxea M, Ibarretxe G, Unda F.

Biologia zelular eta histologia departamentua. Medikuntza eta Ondotologia fakultate. Euskal herriko unibertsitate (EHU). Jon.luzuriaga@gmail.com

Laburpena

Gizaki helduen hortz mamian gongor neuraleko fenotipoa erakusten duten ama zelula populazioak aurkitzen dira; hori dela eta “dental pulp stem cells” (DPSC) deritzete hauei. Markatzaile neuralen espresio basala, eskuragarritasun erraztasuna eta *ex-vivo* hedapen gaitasun handia kontuan izanda, DPSC-ak neuroberritze terapia zelularretan erabiltzea aukera erakargarria da. Desberdintzapenaren zehar xeno-serum bariko erein medioak duen garrantzia eta honi esker zelulek lortzen duten “pre-diferentziazio” egoera agerian geratzen da ikerketa honetan. DPSC-ek duten neurodesberdintzeko barne gaitasunak neuroberritze terapia zelularretan erabiltzeko diferentziazio protokolo erraz, eraginkor eta seguruak sortzeko aukera ematen du.

Hitz gakoak: Ama-zelula, neuroberrikuntza, dental pulp stem cell (DPSC), neurodesberdintzapena.

Abstract

Dental pulp stem cells (DPSC) population has been described in a dental pulp of adult teeth , which show a neural crest cell phenotype. Because of the basal expression of a wide variety of neural cells markers, easy accessibility compare with endogenous neural stem cells and the big capacity of ex-vivo expansion, these are potentially a very attractive option for its use in autologous neuroregenerative cell therapies. It has seen the important role of xeno-serum free medium in the differentiation and the "pre-differentiation" status achieved by DPSC under this condition. The DPSC intrinsic neurodifferentiation potential may leaves the door open to easy, efficient and safe differentiation protocols for posterior use of this cells in neuroregenerative therapies.

Key words: Stem, neuroregeneration, dental pulp stem cell (DPSC).

1. Sarrera eta motibazioa

Ama zelulei buruzko ikerkuntza ezinbestekoa da ehun ingeniarietza berritzaileen terapia berriak sustatzeko. Ehun mindu eta disfuntzionalak berritzeko zelulen transplantean datzan terapia zelularra etorkizuneko medikuntza irauli dezakeen tresna boteretsua da. Giza gorputzak stem zelulen bizitza helduan aktibatuta dirauten zenbait iturri ditu. Hauen egitekoa organismo helduan zelula desberdinduen berriztatzea mantentzea da, eta azala edo hezur muina bezalako berriztatze prozesu handiak jasaten dituzten ehunetan aurkitzen dira batik bat. Stem zelulen transplantea gertatu da jadanik arlo klinikoan eta dituen onurak frogatuak izan dira, teknika honetan jarrita zeuden esperantzak baieztatuz (Rama P. et al., 2010).

Terapia zelularren behin behineko arrakasta izateko, ezinbestekoa da ama zelula populazio eskuragarri, *in vitro* hedakorrak, nahi den zelula motara desberdintzeko ahalmena dutenak, organismora ondo molda daitezkeenak eta arriskurik ez dutenak (ez onkogenikoak) izatea.

Glia zelulak ondoan metatzeko joera dute ehunaren suntsitzea gertatzen denean, orban gliala sortuz, honek zuntz nerbioak sartzea eragozten du eta ondorioz mindutako gunean berrinerbazioa ekiditen da (M. . V. Sofroniew, 2009). Ikerketa esfortzuaren zati handi bat orban glialaren gainetik zuntz nerbioak gurutzatzera laguntzeko estrategiak lortzera dago fokatuta. Lortu dira jadanik emaitza faboragarriak alor honetan, usaimen- erraboileko zelulen transplantearen bitartez primate eta karraskarietan (A. Ramon-Cueto eta C. Muñoz-Quiles, 2011). Tratamendu hau giza pazienteetan erabiltzeko stem zelulen kantitate nahikoa lortzeko metodoak bilatzea beharrezkoa da. Stem zelula neuralak (NSC) 2 gunetan daude kokaturik burmuinean: hipokanpoko giro dentatuko zona

subgranularrean eta alboko bentrikulutako zona subbentrikularrean . Hauek gune irizgaitzak dira, bakarrik zauri handiko burmuin kirurgia bitartez eskuragarriak. Gainera, lortuko litekeen kantitatea oso txikia izango litzateke, burmuin *postmortem* batetik ateratzen ez balira, terapia autologoa baztertuko lukeena (T. D. Palmer et al., 2001).

Hobeto karakterizatuta dagoen stem zelula motatako bat stem zelula mesenkimala (MSC), hauek zilbor-heste, hezur muin, ehun adiposo, etab. aurkitu daiteke (H. K. Vaananen, 2005). Jatorri mesodermikoak duten zelula multipotentzialak dira eta ehun konektibo gehienek aitzindariak. Izaera mesodermiko eta neuroektodermikoa duten zelulen muga handia bada ere emaitza faboragarriak izan dira, bide honetatik lortu diren zelulak neural/glia funtzionalak edo efektu artefaktual bat baino ez badira ere (P. Lu et al., 2004). Bide honek zenbait arazo mediko azaltzen ditu, prozedura batzuek manipulazio genetiko eskatzen dute, beste batzuek zitoeskeletoaren aldaketa edo hiltze zelularra baino ez dute lortzen, eta neurodesberdintzapenaren erakusle gisa erabiltzen diren markatzaile neural bakarrak lausoki agertzen dira.

MSC-ak desberdintzatu daitezkeela frogatzen ez bada ere, MSC-ak eta beste stem zelula batzuk nerbio ehunaren berrikuntzan parte har dezaketela deskribatu da beste mekanismo batzuk erabiliz, esate baterako, anti-hantura zitokinen sekrezio bitartez edota hazkuntza, biziraute eta angiogenesisia sustatzen duten faktoreen bitartez, eta mitokondriaren transferentzia eta fusio zelularra (Y. H. Song et al., 2011). Oraindik ez da argi geratu hauetako zeinek jokatzen duen paper garrantzitsuagoa funtzionamendu neuralaren hobekuntzan MSC transplante esperimintutan.

Zelula neuralek lortzeko beste modu bat gongor neuraleko stem zelulak, *neural crest stem cells* (NCSC) erabiltzea da. Orain dela gutxi ezagutu da hortz eta periodontoko ehuna NCSC iturri garrantzitsuak direla. Ehun konektibo kraneofazial gehienak, hortz muina eta lotailu periodontala, besteak beste, ehun konektibo berezi batez osaturik daude, zein garapen enbrionarioan zehar gongor neuraletik gongor neuraletik sortua den eta ektomesenkima da izendatua (S. Gronthos et al., 2000). Aho muskulua, hezur, mingain, nerbioa eta hortz stem zelulak ektomesenkimatik (EMSC) datoz eta jatorria konpartitzen dute NCSC-ekin.

Zelula hauen ezaugarri garrantzitsuenetako bat hauetako kantitate handi bat hortz mamian eta lotailu periodontalean mantentzen direla da, bai betirako hortz zein hortz erorkorretan ere (G. T. Huang et al., 2009). *In vivo* funtziorik garrantzitsuena fibroblastoak, hortz mamian, eta dentina eratzeke odontoblasto populazioen berritzea da, ehun periodontalean berriz kolageno zuntzak eta fibroblastoak birmoldatzen laguntzen du indar murtzikatzailea moldatzeko (B. M. Seo et al., 2004). Hortz EMSC-en abantaila gongor neuraleko fenotipoa erakusten dutela da eta MSC-etan gertatzen ez de bezala neural aitzindariak markatzaileak adierazten ditu kondizio basaletan. Enbriogenesian alboko sistema nerbiosoarekin ama-komunean duten jatorria kontuan izanda, zilegi dirudi EMSC-ak beste stem zelulak baino zelula nerbioetatik zenbait pauso aurrerago egotea eta, beraz, neurodesberdintzapen gaitasun handiagoa izatea. Hala ere, aipatu beharra dago desberdintze erraztasun hau ez dela hortz EMSC-ena bakarrik, beste NCSC batzuek ere, azal edo ile-folikuluko zelulek antzerako ahalmena dute (K. J. L. Fernandes et al., 2006).

Hainbat EMSC desberdin aurki daitezke hortz helduetan:

- EMSC stem zelulen artean giza hortz erorkorren ama zelulak daude, baita bere ingelesezko akronimoaz ezagunak, SHED (I. Kerkis et al., 2007).
- EMSC-en barruan koka daitezkeen beste ama zelula batzuk lotailu periodontalean aurkitzen direnak dira (PDLSC) (J. Xu et al., 2009).
- Digestio entzimatik bitartez isolatuak izan daitezkeen gongor neuraletik eratorriak diren EMSC populazioak aurkitzen dira giza hortz helduetan. *In vitro* ereinduak direnean forma fibroblastikoa duten kolonia itsaskor klonogenikoak sortzen dituzte. DPSC akronimoz ezagunak

diren ama zelula hauek, ugaritze ahalmen aldakorra adierazten dute eta baita morfologia eta ehun markatzaile espektro zabal bat ere. Errealitatea da *in vitro* hazitako DPSC-ak hainbat lerro zelularretara desberdindu daitezkeela odontoblastoak, adipozitoak, gihar zelula eta kondroblastoetara, adibidez. Lerro batera edo bestera desberdintzatzeko ahalmena ehun ostalariak askatzen dituen seinale parakrinoen menpe dago, zelula transplantatuak ehunaren fenotipo berezi bera sortzea eraginez (J. Yu et al., 2007). Deskribatu da 3 geruza enbrionarioetara desberdintzeko gaitasuna dutela; endodermo, mesodermo eta ektodermora, bakarrik ama zelula enbrionarioen (ES) eta zelula pluripotente indusituen (IPS) ezaugarri berezia uste zelarik (M. Atari et al., 2011). Markatzaile pluripotentzialak (Oct4, Sox2) eta berezko mesenkimalak (kolagenoI eta vimentina) adierazten dituzte. Ikerketa honetan ikusiko den bezala, gainera, markatzaile neural batzuk (B3tubulina, nestina) ere espresatzen ditu eta "pre-diferentziazio" egoeran aldaketa eman daitezke hauekiko batzuetan (M. Kiraly et al., 2009).

Eskuragarritasun erraztasuna, odol gabeko kirurgia beharra eta stem zelulen kantitate handia kontuan hartuta, DPSC zelula mota neuroberrikuntza terapia zelular autologoetan erabiltzeko tresna ezin hobea da. Hori dela eta, ezinbestekoa da zelula hauen karakterizazio eta ezagutza absolutua giza pazienteetan lan egiten hasi baino lehen.

Orain arte literaturan deskribaturiko neurodesberdintzapenean erabilitako koktekek giza organismoarentzako toxikoak diren sustantziak dituzte. Gainera, DPSC-en hedapenerako erabilitako errein medioak DMEM (Dubelcco's modified Eagle medium), FBS%10-an du, zein giza organismorako elementu exogenoa den. Ezinbestekoa da zelula hauek terapia zelularretan erabiliko diren heinean, ahalik eta osasuntsuen eta naturalen mantentzea, beraz, gorputzarentzako exogenoak diren elementuak desberdintzapen protokolutik ezabatzea. Horregatik stem zelulentzako berezia den serum gabeko hazkuntza medioa erabiliko dugu, stem pro bezala ezaguna dena, eta STP izendatuko duguna. Gure ikerketa zelula hauen neurodesberdintzatzeko ahalmen intrintsekoak erabiltzean oinarrituko da, sasi-desberdintzapen bat lortu eta ondoren fase *in vivo* batean testatzeko.

2. Ikerketaren helburuak

Xede nagusia hortz mamitik lortutako zelulen neurodiferentziazio ahalmena ezagutzea da. Horretarako lerro nerbioetara diferentziazioa erraztu dezaketen elementu eta mekanismoak ikertzea ezinbestekoa da. Helburu espezifikoak hurrengoak dira:

- DPSC-en karakterizazio orokorra.
- Serum gabeko medioak molekularki eta zelularki eragin dezakeen "pre-diferentziazio" egoera.
- Diferentziazio nerbioetan garrantzitsuak diren molekula desberdinen eta molekula hauen hartzaileen identifikazioa: neurotrofinen hartzaileak, neurotrofinak eta neurotransmisoreak.

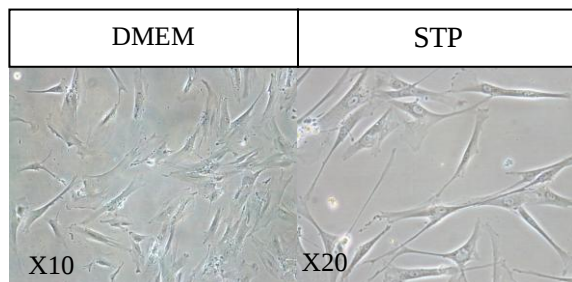
3. Ikerketaren muina

DPSC-ekin lan egiteko orduan argi izan behar da azken helburua hauek giza terapia zelularretan erabiltzea izanik ezin direla zelula hauen bidegarritasuna zein normaltasuna aldatu ditzaketen konposaturik erabili. Premiazkoa da zelulak era natural eta seguru batean lerro neuraletarantz desberdinduko dituen bide bat aurkitzea. Ikerketa honek oinarri izango du gizakiarentzat faktorerik exogenorik gabe lan egitea. Hazkuntza medio arruntek %10 behien fetu serum-a beharrezkoa izaten dute, beraz, erabiliko diren medioek hau ez edukitzea izango da lehen urratsa, erabiliko den hazkuntza medio ordezkiko Stem PRO izenarekin ezagutzen da merkatuan eta STP bezala izango da izendatua lan honetan.

3.1 DPSC-en oinarritzko karakterizazioa

DMEM zein STP-n azaleko karakterizazio burutu da batetik DPSC-ek dituzten berariazko gaitasunak ezagutzetako eta bestetik ea serum gabeko medioak oinarritzko ezaugarrietan inolako aldaketarik eragiten duen jakiteko.

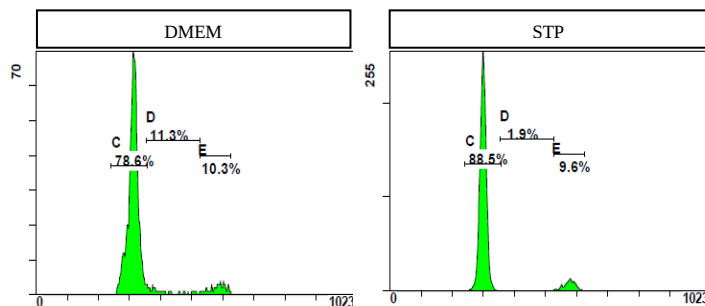
1. irudia. Fenotipo aldaketa DMEM eta STP medioetan ereindako DPSC-etan.



1.irudian ikus daitekeen moduan alderantzizko mikroskopia optikoan serum-aren presentzian (DMEM) kultibatuak izan diren DPSC-ak fibroblasto-moduko itxura zapal eta luzatua erakusten dute, STP-en ereinduak izan direnak berriz neural-moduko itxuraruntz hurbiltzen dira, prozesu luze eta finak ikusten direlarik.

Garrantziskoa den beste puntu bat, DPSC-ek duten proliferazio ahalmena da. Hori neurtzeko fluxu zitometro bidez ziklo zelularreko experimentuak burutu ziren iodo propidioa erabiliz. Proba honi esker ez da bakarrik DPSC-ek duten bikoizketa heina zehaztu baizik eta serum-aren absentiak eragiten duen proliferazio ratio aldaketa ikustea lortu da.

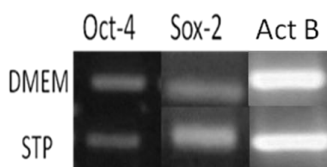
2. irudia. Fluxu zitometria bitartez 2 erdin medioen ereindako DPSC-en ziklo zelular azterketa.



2.irudian DMEM eta STP-n hazkuntza kultibotan hazitako DPSC-en ziklo zelularreko egoera dago irudikatuta. Horrela serum-aren presentzian ereindako zelulen populazioaren %21,6 metafase egoeran dagoela ondorioztatu zen. STP-n hazitako zelulen %11,5 baino ez da bikoizketa fasean agertzen. Emaita hauek “pre-diferentziazio”-aren hipotesia bermatzen dute nola bait, non bikoizketaren gelditzea zelulak diferentziazio egoeran sartzean lortzen den efektuari dagokiola ulertzen bada.

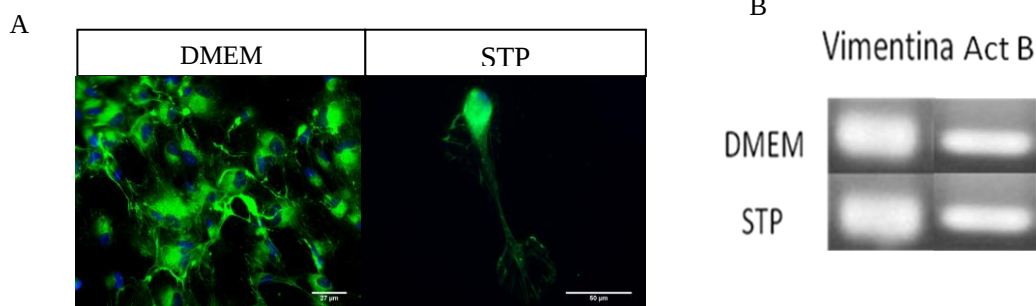
Azkenik oinarritzko karakterizazio honi amaiera emateko 1 atalean (sarreran) aipatu den pluripotentialtasuna frogatzeko zenbait esperimentu burutu ziren. 3 geruza enbrionariotako markatzaileak aztertuz.

3. irudia.PCR konbentzional bidez OCT-4 eta SOX-2 geneen azterketa. Actina B “housekeeping”- a geneen kontrol positibo bezala erabili da.



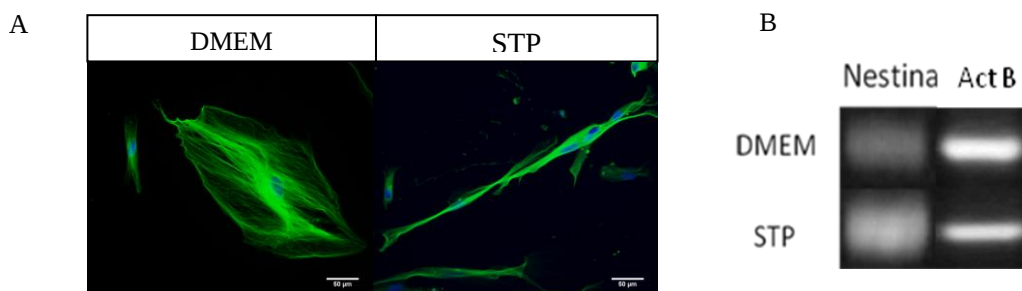
3.irudian PCR konbentzionalen bitartez OCT-4 eta SOX-2 markatzaile pluripotentzialen geneei dagozkien bandak ikus daitezke 2 erein egoeratan.

4. irudia. A, kolageno I dagokion immunozitokimika. B, PCR konbentzional bidez vimentinaren genearen azterketa. Actina B “housekeeping”- a geneen kontrol positibo bezala erabili da.



4A. irudian kolageno I markatzaile mesenkimala geneari dagozkien immunozitokimikako irudiak ikus daitezke 2 egoeratan, biak x40 handipenetara daude eta 2.ek aurkezten dute markatzailea (berdez).4.B irudian PCR konbentzionalen bitartez vimentina markatzaile mesenkimala geneari dagozkion bandak ikus daitezke 2 egoeratan.

5. irudia. A, B3tubulinari dagokion immunozitokimika. B, PCR konbentzional bidez nestinaren azterketa. Actina B “housekeeping”- a geneen kontrol positibo bezala erabili da.

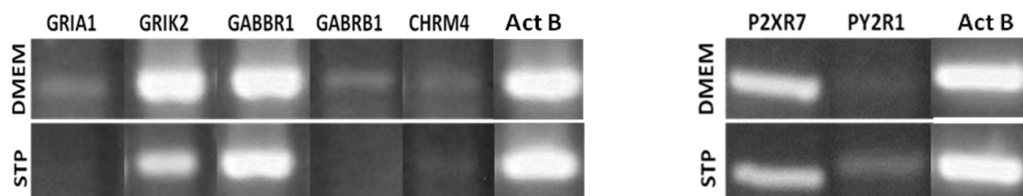


5A.irudian β 3tubulina markatzaile neurala geneari dagozkien immunozitokimikako irudiak ikus daitezke 2 egoeratan, biak x40 handipenetara daude eta 2.ek aurkezten dute markatzailea (berdez) fenotipoki desberdinak badira ere.4.B irudian PCR konbentzionalen bitartez nestina markatzaile neurala geneari dagozkion bandak ikus daitezke 2 egoeratan.

3.2 Serum absentsian, STP-n, ereindako zelulen "pre-diferentziazio" egoera

Behin oinarritzko ezaugarriak aztertuta eta DPSC zelulek duten izaera anizkoitza eta pluripotentzialtasuna frogatu ostean, lerro nerbiosoko zelulek bere dituzten ezaugarriak DPSC-etan agertzen diren begiztatzea izan zen hurrengo pausua.

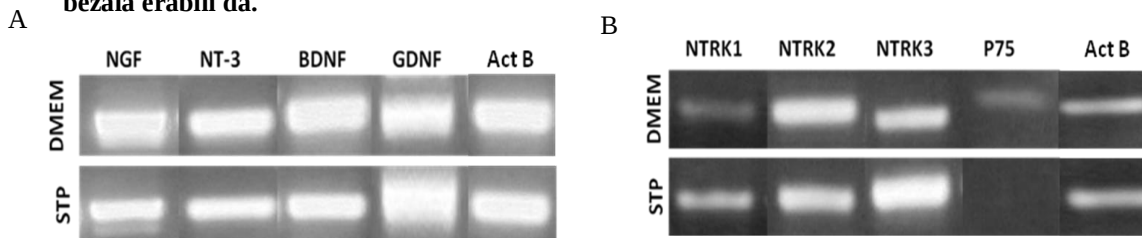
6. irudia. Neurotransmisoreen hartzaileei dagokien PCR konbentzionalen emaitzak. Actina B “housekeeping”- a geneen kontrol positibo bezala erabili da.



6.irudian PCR konbentzional bidez neurotransmisore nagusien hartzaile diren geneei dagozkien bandak ikus daitezke. Argi eta garbi antzematen da 2 egoeratan adierazpena antzeko dela. Beraz, nerbio ehunetako zelulen berezko diren ezaugarriak azaltzen dituzte DPSC-ek eta STP-n ereitean ez dira hauek galtzen. Parentesi artean hartzaile bakoitzaren agonista dago izendatua; GRIA1(ampa), GRIK(kainato), GABBR1/GABRB1(gaba), CHRM4(kolinergikoa), P2XR7(ATP,ionotropikoa), PY2R1(ATP,metabotropikoa).

Alde batetik, neurotrofinak eta hauen hartzaileak ditugu. Neurotrofinak zelula nerbioek askatzen dituzten hazkuntza, desberdintze eta biziraute elementuak izaki, hauen presentzia DPSC-etan aztertu zen.

7. irudia. A, neurotrofinei dagokien PCR konbentzionalaren emaitza. B, neurotrofinen hartzaileei dagokien PCR konbentzionalaren emaitza. Actina B “housekeeping”- a geneen kontrol positibo bezala erabili da.

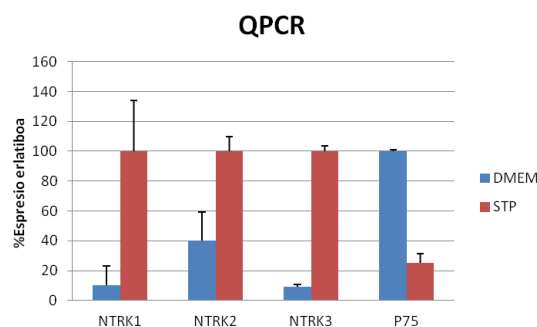


7.A irudian PCR konbentzional bidez neurotrofina nagusiak diren geneekin erlazonatutako bandak ikus daitezke.

Argi eta garbi antzematen da 2 egoeratan adierazpena antzeko dela. Bestalde, 7.B irudian PCR konbentzional bidez neurotrofinen hartzaile nagusiak diren geneei dagozkien bandak ikus daitezke. Kasu honetan, berriz, adierazpen desberdintasuna dago serum gabeko hazitako zeluletan. Derbedintasun agerienak NTRK1 eta P75 geneetan antzeman daitezke. Bai serum-dun medioan (DMEM) zein STP-n adierazpen geniko berbera ikusten da kasu gehienetan, hala ere, agerian geratzen da STP medioan ereindutako zelulek zenbait desberdintasun adierazten dituztela gene ekspresioan DMEM-ekoekin alderatuta. Neurotrofinen hartzaileen kasua da esanguratsuen. Elementu hauek neurodesberdintzapenean duten garrantzia kontuan izanda, gehiago sakondu nahi izan da hauen esagutzan eta hurrengo irudian adieraziko diren PCR kuantitatiboaren emaitzek argi usten dute jasandako aldaketa.

Argi ikusten da STP medioko zelulek erakusten duten NTRK1 (NGF), NTRK2 (BDNF) eta NTRK3 (NT3)ren gain-adierazpena, P75 afinitate baxuko hartzailea azpi adierazi egiten delarik mRNA mailan (8.irudia). Emaitza honek hurrengo pausoa eta neurodesberdintzapenaren helburua lortzeko bidea argi usten du. STP-k lortarazten duen hartzaileen gain-espresioa aprobeztatu beharreko tresna bat da. Hurrengo atalean ikusiko den bezala.

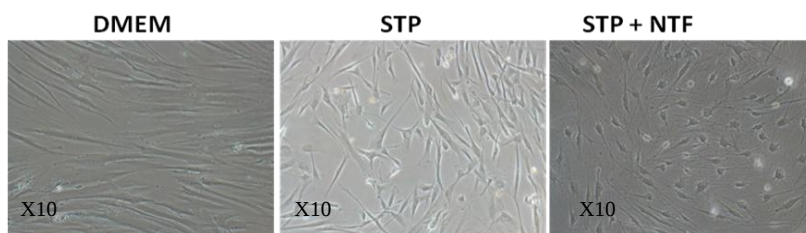
8.irudia. Neurotrofinen hartzaileei dagozkien PCR kuantitatiboaren emaitza.



3.3 Neurotrofina bidezko diferentziazio koktela

Aurreko azpiatalean NGF, BDNF eta NT3 neurotrofinen hartzaileak STP hazkuntza medioan gain-adierazi egiten direla ondorioztatu da. STP medioari 3 neurotrofina hauek gehituz ea burmuineko NSC-en neurodiferentziazioan deskribatuta dagoen neurotrofinen hartzaile bidezko desberdintzapena aztertzeke.

9.irudia. 3 egoera (DMEM/STP/STP + neurotrofinak gehituta) desberdinetan DPSC zelulen irudi optikoa.



Aldaketa fenotipikoa benetako desberdintzapen bat egon dela zihurtatzeko nahikoa ez bada ere, argi geratu da 3 egoeratan DPSC-ek aldaketa morfologiko esanguratsu bat izan dutela (8.irudia). STP eta neurotrofinak konbinatzean glia moduko izar itxurako, eta neuronen antzeko prozesuak, dendritak eta axoiak, dituzten zelulak ikusten hasten dira, eta beraz, nolabaiteko desberdintzapena eman dela proposatu daiteke.

4. Ondorioak

- DPSC-en karakterizazio hertsia lortu da.
- DPSC-ak serum gabeko mediotan ereitean genotipo zelularrean aldaketa nabari bat frogatzen da, lehen aipatutako "pre-diferentziazio" teoria bermatzen delarik. (STP) serum gabeko medioan neurotrofinen hartzaileen (NTRK1, NTRK2, NTRK3) gene gain-adierazpen bat ikusten da, proliferazio eta beste gene batzuen adierazpen aldaketa batzuekin batera baina ezaugarri orokor eta garrantzitsu bat bera ere aldatu gabe.
- Neurotransmisoreen hartzaileen gene adierazpenean aldaketa nabaria ematen da serum absentsia eta presentziaren arabera erein medioan.
- Neurotrofinak gehitzean GFAP adierazpena handitu eta glia itxurako fenotipoa lortzera heltzen dira DPSC-ak, nolabaiteko diferentziazioa islatuz.

Azkenik, orokorrean, ikerketa honetan neurotransmisoreen eta neurotrofinen aurrean DPSC-en erantzun ahalmena egiaztatu da. Honek terapia zelularreko pazienteen segurtasuna arriskuan jarriko ez duen neurodiferentziazio protokolo berriak sortzeko aukera emango du.

5. Etorkizunerako planteatzeko den norabidea

Burutuko den lehen azterketa, neurotrofinen koktela gehitzean DPSC-ak jasaten dituzten aldaketa molekular eta zelularrak jasotzea izango da. Ezinbestekoa izango da desberdintzapen koktela gehitu ostean markatzaile neural berantiarrek adierazten hasten diren jakitea.

DPSC zelulek duten neurodiferentziazio barne ahalmena frogatu ostean, ikerketa honek iraun duen bitartean jasotako informazio guztiarekin neurodiferentziazio protokolo eraginkor eta fidatzekoa osatzea izango da hurrengo pausoa. Ezinbestekoa izango da, DPSC-ekin giza pazienteetan lan egiten hasi baino lehen hauek nahi ditugun lerro nerbioetarako (mikroglia, oligodendrozitoak, neuronak, etab.) desberdintzeko ahalmena lortzea, eta prozedura hau errepikagarria izan dadila.

Bestalde, fase "in-vivo" bat ere aurreikusia dago proiektu honetan, DPSC desberdinduak ehun nerbioetan edozein modutako lesioaren bat izan duten edota gaixotasun nerbioetan bat pairatzen duten saguekin lan egitea da helburua, benetan terapia zelularretan izan dezaketen garrantzia testatzeko eta zelula ostalariekin sor ditzaketen elkarrekintzak baloratzeko.

6. Erreferentziak

- A. Arthur et al., (2008), "Adult human dental pulp stem cells differentiate toward functionally active neurons under appropriate environmental cues," *Stem Cells*, vol. 26, no. 7, pp. 1787–1795.
- A. Ramon-Cueto and C. Muñoz-Quiles, (2011) "Clinical application of adult olfactory bulb ensheathing glia for nervous system repair," *Experimental Neurology*, vol. 229, no. 1, pp. 181–194.
- B. M. Seo et al., (2004), "Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament," *Lancet*, vol. 364, no. 9429, pp. 149–155.
- G. T. Huang et al., (2009) "Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine," *Journal of Dental Research*, vol. 88, no. 9, pp. 792–806 .
- H. K. Vaananen, (2005), "Mesenchymal stem cells," *Annals of Medicine*, vol. 37, no. 7, pp. 469–479.
- I. Kerkis et al., (2007), "Isolation and characterization of a population of immature dental pulp stem cells expressing OCT-4 and other embryonic stem cell markers," *Cells Tissues Organs*, vol. 184, no. 3-4, pp. 105–116.
- J. Xu et al., (2009), "Multiple differentiation capacity of STRO-1+/CD146+ PDL Mesenchymal Progenitor Cells," *Stem Cells and Development*, vol. 18, no. 3, pp. 487–496.
- J. Yu et al., (2007), "Odontogenic capability: bone marrow stromal stem cells versus dental pulp stem cells," *Biology of the Cell*, vol. 99, no. 8, pp. 465–474, 2007.
- K. J. L. Fernandes et al., (2006) "Analysis of the neurogenic potential of multipotent skin-derived precursors," *Experimental Neurology*, vol. 201, no. 1, pp. 32–48.
- M. Atari et al., (2011), "Isolation of pluripotent stem cells from human third molar dental pulp," *Histology and Histopathology*, vol. 26, no. 8, pp. 1057–1070.
- M. Kiraly et al., (2009), "Simultaneous PKC and cAMP activation induces differentiation of human dental pulp stem cells into functionally active neurons," *Neurochemistry International*, vol. 55, no. 5, pp. 323–332.
- M. V. Sofroniew, (2009) "Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation," *Trends in Neurosciences*, vol. 32, no. 12, pp. 638–647.
- Rama P. et al., (2010) Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *N Engl J Med*. Jul;363(2):147-55.
- P. Lu et al., (2004) "Induction of bone marrow stromal cells to neurons: differentiation, transdifferentiation, or artifact?" *Journal of Neuroscience Research*, vol. 77, no. 2, pp. 174–191.
- S. Gronthos et al., (2000) "Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 97, no. 25, pp. 13625–13630
- X. Yang et al., (2007), "Multilineage potential of STRO-1+ rat dental pulp cells in vitro," *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, vol. 1, no. 2, pp. 128–135.
- Y. H. Song et al., (2011), "Stem cell-induced cardiac regeneration: fusion/mitochondrial exchange and/or transdifferentiation?" *Cell Cycle*, vol. 10, no. 14, pp. 2281–2286.

7. Eskerrak eta oharrak

- Jesus Gangoiti Barrera fundazioari eskerrak emandako diru laguntzagatik.
- UPV/EHUK emandako beka predoktoral bati esker sustatua izan da ikerketa (PIF/13/268).