ارتباط تحلیل استخوان ناشی از حرکات ارتودنتیک و بروز ژن RANKL در rats

دکتر مسعود سیفی*، دکتر مریم جسری**

چکیده

سابقه و هدف: *محصول بروز ژن RANKL نقش مهمی در تحلیل استخوان داشته، موجب فعال شدن زنجیره ساخت استئوکلاست از سلول‌های پیش‌ساز آن می‌شود. وجود گزارشاتی مبنی بر نقش غیر قابل اغماض RANKL در تحلیل استخوان در شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک منجر به مطرح شدن فرضیهٔ تاثیر این مولکول بر روند تحلیل استخوان ناشی از حرکت ارتودنتیک دندانی شد. بنابراین این تحقیق با هدف بررسی رابطه تحلیل استخوان ناشی از حرکات ارتودنتیک و بروز ژن RANKL در rat صورت پذیرفت*

مواد و روشها: *در این مطالعه تجربی، از یک closed coil spring که به وسیله دو قطعه ligature wire بر روی مولر اول راست فک بالای ۱۵ rat هفت هفته‌ای Wistar نر کار گذاشته شده بود، برای ایجاد حرکت مزیالی دندان‌های مولر اول از نوع tipping استفاده شد. مولر چپ فک بالای هر جانور، به عنوان گروه شاهد داخلی برای دندان‌های سمت مقابل همان جانور استفاده شد. در روز بیست و یکم، جانوران قربانی شدند و بافت استخوانی سمت مزیال دندان‌های مولر اول ماگزیلای جانوران برای آزمایشات PCR ارسال شد. تحلیل دانسیته mRNA کد کننده RANKL بر روی ژل الکتروفورز با آزمون Wilcoxon Sign Rank انجام شد.*

یافته‌ها: *آزمون آماری افزایش معنی‌داری را در تظاهر این ژن در گروه آزمایش در مقایسه با گروه کنترل نشان داد(P=۰/۰۰۲). صحت بررسی‌های PCR با استفاده از ژن GAPDH تایید شد.*

نتیجه‌گیری: *براساس اطلاعات به دست آمده در محیط کنترل شده آزمایش، میزان بروز ژن RANKL، متعاقب تحلیل استخوان ناشی از حرکات دندانی به صورت معنی‌داری افزایش می‌یابد.*

کلید واژگان: *RANKL، تحلیل استخوان، حرکات ارتودنتیک دندانی*

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸٦/۸/۸ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۳۸۷/۸/۲۵ تاریخ تأیید مقاله: ۱۳۸۷/۹/۱۲

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دوره ۲٦، شماره ٤، زمستان ۱۳۸۷، ۳۷٤-۳٦۹

مقدمه

در هنگام وارد شدن نیروهای ارتودنسی، الیاف پریودنتال در سمت وارد شدن نیرو (فشار)، به طرز محسوسی تغییر می‌یابند(۱). در حقیقت نیروی ارتودنسی باعث remodel شدن بافت استخوان آلوئل می‌شود(۲) که این امر (تحلیل استخوان از یک سو و بازسازی از سمت مقابل) باعث بوجود آمدن حرکات دندانی می‌گردد.

استئوکلاست‌ها نقش مهمی در تحلیل استخوان ایفا می‌نمایند(۳،٤)، بنابراین شناخت ویژگی‌های این سلول‌ها در سطح مولکولی می‌تواند نقش بسیاری در آگاهی از شیوهٔ عمل این سلول‌ها در پدیده‌های کلینیکی داشته باشد. RANKL که محصول بروز آن Receptor Activator of Nuclear factor kappa β Ligand بوده، یکی از اعضای خانواده Tumor Necrosis Factors است، از حدود سیصد آمینواسید تشکیل شده و نقش اصلی آن در استخوان، تحریک تمایز و عمل استئوکلاست‌ها می‌باشد(۵).

نتایج آزمایشات محققان حاکی از آن است که سلول‌های پالپ دندان‌های شیری در حال تحلیل، در مقایسه با گروه کنترل، حاوی مقادیر بالاتری از RANKL هستند(٦). این یافته، با در نظر داشتن این حقیقت که در هنگام رویش دندان‌های دائمی، تحلیل ریشه و استخوان به صورت فعال صورت می‌پذیرد، می‌تواند موید نقش RANKL در تحلیل ریشه یا استخوان در هنگام رویش دندان‌های دایمی باشد.

* نویسندهٔ مسئول: دانشیار گروه ارتودنسی، دانشکده دندانپزشکی و مرکز تحقیقات دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.
E-mail:mseifi@dent.sbmu.ac.ir

** دندانپزشک.

Archive of SID

www.SID.ir

در آنالیز هیستوشیمیایی لیگاند NF Kappa B مربوط به فعال کنندهٔ گیرنده این ژن، بروز ژن مرتبط به لیگاند مذکور محرز گردیده است. همچنین بروز ژن RANKL در سلول‌های فیبروبلاست و استئوکلاست مربوط به PDL گروه آزمایش افزایش معنی‌داری را نشان داده است و از آنجا که فعالیت RANKL با تحلیل استخوان همراه است، تعداد استئوکلاست‌ها نیز در گروه آزمایش افزایش معنی‌داری پیدا می‌کنند(۷).

مطالعات حاکی از آن هستند که میزان بروز RANKL در ارتباط با تحلیل استخوان التهابی ناشی از تزریق لیپوپلی ساکارید در لثهٔ دندان‌های مولر تحتانی rat در استئوکلاست‌های حاضر در ناحیهٔ التهاب افزایش می‌یابد. این یافته‌ها به وضوح نشان می‌دهند که بروز RANKL در سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های التهابی و سلول‌های پریودنشیم در تحلیل استخوان افزایش می‌یابد. همچنین در این مطالعه ارتباط مثبتی بین تحلیل ناشی از ترامای اکلوزال و بروز RANKL در استئوکلاست‌های موجود در ناحیه تحلیل رفتهٔ استخوان دیده شده است(۸).

نشان داده شده است هنگامی که عملکرد RANKL از طریق OPG مهار می‌شود، میزان تحلیل استخوان ناشی از پریودنتیت به مراتب کمتر از حالتی خواهد بود که این مولکول مهار نشده است. این یافته نیز قویا به ارتباط متقابل و مثبت تحلیل استخوان و بروز RANKL اشاره می‌کند(۹).

یافته‌های مطالعاتی که به آنها در سطور پیشین اشاره شد، به اتفاق موید نقش RANKL در تحلیل استخوان هستند. مطالعات فوق، احتمال افزایش بروز این ژن متعاقب حرکات دندانی که به تحلیل استخوان منجر می‌شوند، را مطرح ساخت. بنابراین این تحقیق با هدف بررسی رابطهٔ تحلیل استخوان ناشی از حرکات ارتودنتیک و بروز ژن RANKL در rat صورت پذیرفت.

مواد و روشها

در این تحقیق تجربی، ۱۵ عدد rat نر Albino از نژاد Wistar هفت هفته‌ای با متوسط وزن بدن بین دویست گرم (۲۰±۲۰۰= محدودهٔ وزنی) به طور تصادفی انتخاب شده، جامعه مورد بررسی را تشکیل دادند. در هر جانور، مولر اول سمت راست فک بالا، که دستگاه ارتودنسی روی آن نصب شده بود، گروه مورد و مولر اول سمت چپ جانور که دستگاهی بر روی آن نصب نشده بود، برای دندان سمت راست همان جانور، گروه شاهد داخلی را تشکیل می‌داد. در طول آزمایش نمونه‌ها بر طبق قوانین مصوب کمیتهٔ نگهداری و استفاده از جانوران آزمایشگاهی نگهداری و از روش‌ها و اعمالی که به صدمه جسمی شدیدی در حیوان منجر می‌شد، اجتناب شد. پیش از انجام آزمایش، تاییدیهٔ کمیته اخلاق برای انجام آزمایش اخذ گردید. برای از بین بردن تاثیر متغیرهای مداخله‌گری نظیر تغذیه، شرایط محیطی و تنش بر نتایج مطالعه، در تمام طول مدت آزمایش، تمام نمونه‌ها در شرایط تغذیه‌ای، نور و محیط زندگی یکسان نگهداری شدند.

در روز صفر جانوران پس از کدگذاری با تزریق مخلوط داروی کتامین (ساخت کارخانه Alfasan-Holand، به سفارش سازمان دامپزشکی ایران)، به میزان ۵۰mg/kg و ۰/۱ cc در ترکیب با داروی Chlorpromazine (ساخت کارخانه تهران شیمی-ایران) به روش داخل صفاقی تحت بیهوشی عمومی قرار گرفتند. فاصلهٔ میان دندان‌های مولر اول و دوم جانوران به وسیلهٔ gauge اندازه‌گیری شد. پس از ثبت فاصلهٔ بین دندانی، یک قطعه سیم لیگاچور به قطر ۰/۰۰۸ اینچ از بین دندان‌های مولر اول و دوم سمت راست فک بالای جانور رد شده، یک فنر closed coil (۰/۰۰۸×۰/۰۰۲ اینچ – طول = ۱۲ میلی‌متر) به منظور ایجاد حرکت tipping دندانی مولر اول به سمت مزیال، به مزیال این دندان‌ها متصل گشت. نیروی وارد شده توسط فنر ۶۰ gf برآورد شد که مقدار این نیرو به وسیلهٔ نیروسنج اندازه‌گیری شد. در قسمت قدامی، فنر به وسیلهٔ یک قطعهٔ دیگر از سیم لیگاچور به دو دندان انسیزور جانور متصل شد. به منظور جلوگیری از آسیب رساندن به مخاط جانور، انتهای سیم لیگاچور بر روی دندان‌ها خم شده، روی آن با کامپوزیت No-mix (Dentaurum® Group, Ispringen, Germany) پوشانده شد.

گروهی از دندان‌ها که بر روی آنها دستگاه ارتودنسی متصل شده بود به عنوان گروه آزمایش و دندان‌های مقابل جانور که بر روی آنها دستگاهی نصب نشده بود به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند. پس از نصب وسیله،

Archive of SID

www.SID.ir

حیوانات به محل نگهداری منتقل شدند و به منظور به حداقل رساندن تاثیر عوامل مداخله‌گر، در تمام مدت آزمایش (۲۱ روز) در شرایط محیطی و تغذیه‌ای یکسان نگهداری گردیدند. در روز ۲۱ جانوران بوسیله استنشاق کلروفرم با استفاده از دسیکاتور محتوی کلروفوم اشباع شده قربانی شدند. فک بالا بلافاصله به طور کامل جداسازی شد. فاصله بین دندان‌های مولر اول و دوم مجدداً اندازه‌گیری شده، برای مقایسه به منظور تعیین میزان حرکت دندانی ایجاد شده، ثبت شد.

از آنجا که حرکت دندانی در استخوان آلوئول منوط به تحلیل استخوان آلوئولار نگهدارندهٔ دندان‌هاست، میزان تحلیل استخوان آلوئول معادل میزان حرکت دندانی اندازه‌گیری شده در نظر گرفته شد. بافت استخوان مزیال دندان‌های مولر اول گروه مورد و شاهد بوسیله فرز و دیسک‌های ظریف، جداسازی و برای انجام آزمایش‌های PCR ارسال شدند.

بافت استخوان جداسازی شده از سطح مزیال دندان‌های مولر اول ماگزیلا گروه مورد و شاهد، به صورت snap-frozen در دمای $-20^{\circ}C$ نگهداری شدند. نمونه‌ها به مدت یک شبانه‌روز در محلول ٪۵ EDTA و سپس برای اطمینان از لیز کامل سلول‌ها، به مدت ۱۵ دقیقه در دستگاه سونیکاتور قرار داده شدند. پس از خارج نمودن نمونه‌ها از دستگاه، مراحل خالص‌سازی RNA انجام پذیرفت. پس از انجام مراحل دناتوراسیون اولیه، به منظور کامل شدن رشته‌ها، یک مرحله final extension در دمای هفتاد و دو درجه سانتیگراد و به مدت ۵ دقیقه انجام شد.

با استفاده از آنزیم ترانسکریپتاز معکوس(Super-Script II, Bibco, Wickliffe, Ohio) و ۲ µlit پرایمرهای هگزامر، cDNA سنتز و به وسیله taq DNA polymerase، Amplitaq® DNA polymerase applied biosystems CA-USA)، بافر PCR (Applied biosystems – CA - USA)، پرایمرهای اختصاصی RANKL و GAPDH (Sigma Aldrich, India)، $MgCL_2$ (Perkin Elmer/Cetus) و تحت شرایط جدول ۱ آمپلیفای شدند.

برای مشاهدهٔ نوارهای DNA در دستگاه UV transilluminator محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز و بوسیلهٔ اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی شد. طول محصول PCR ژن RANKL در این مطالعه، ۳۵۵ جفت نوکلئوتید اندازه‌گیری شده و ژن GAPDH به عنوان ژن کنترل‌گر به کار رفت. میزان تظاهر mRNA با تعریف یکا به صورت صفر، یک، دو، سه به ترتیب هیچ، کم، متوسط و زیاد به صورت single practitioner و assistant observer اندازه‌گیری و ثبت شد. نتایج مطالعه با استفاده از آزمون Wilcoxon Signed Rank و با در نظر گرفتن خطای نوع اول آماری برابر ۰/۰۵ توسط نرم‌افزار SPSS 11.5 مقایسه گردید.

جدول ۱- شرایط آمپلیفیکاسیون اختصاصی

مرحله	دما (درجهٔ سانتی‌گراد)	زمان (ثانیه)
دناتوراسیون	۹٤	۳۰
آنیلینگ	۵۵	۳۰
extension	۷۲	۳۰

یافته‌ها

افزایش وزن ۸ تا ۱۱ درصدی در نمونه‌ها در جریان تحقیق موید آن است که دستگاه‌های ارتودنسی به کار رفته موجب تداخل با تغذیه نمونه‌ها نشده، نمونه‌ها دارای رشد و افزایش وزن طبیعی بوده‌اند. اطلاعات و نتایج حاصل از بررسی‌های آماری میانگین و انحراف معیار حرکت دندان در نمونه‌های مربوط به گروه آزمایش حاکی از آن است که در نمونه‌های گروه آزمایش حداکثر حرکت دندانی ۰/۹۸ میلی‌متر، حداقل ۰/۸۵ میلی‌متر، با میانگین ۰/۸۹ میلی‌متر و انحراف معیار داده‌ها ۰/۰۶ محاسبه شده است(جدول ۲). با توجه به آنچه که پیشتر نیز بدان اشاره شد، میزان تحلیل استخوان در این جانوران، معادل میزان حرکت دندانی در نظر گرفته شد. از آنجا که بر روی دندان‌های مولر گروه شاهد دستگاهی نصب نشده بود، بنابراین این دندانها حرکت نکرده، در نتیجه تحلیل استخوانی نیز در آنها رخ نداد.

بر اساس یافته‌های آزمایش RT-PCR، RANKL mRNA در تمام نمونه‌های گروه آزمایش قابل ردیابی بوده، تنها در سه مورد از نمونه‌های گروه کنترل دیده شد. نتایج آماری

Archive of SID
www.SID.ir

حاصل از بررسی ژل آگارز تهیه شده از الکتروفورز نمونه‌ها برای ردیابی RANKL mRNA و مقایسه نتایج دو گروه مورد و شاهد (جدول ۳) با استفاده از آزمون Wilcoxon Sign Rank حاکی از معنی‌دار بودن اختلاف بروز mRNA این ژن در گروه مورد و شاهد بود (P=۰/۰۰۲).

جدول ۲- گزارش میزان حرکت دندانی در گروه آزمایش

	میانگین	انحراف معیار	حداقل حرکت	حداکثر حرکت
میزان گزارش شده	۰/۸۹ میلی‌متر	۰/۰۶ میلی‌متر	۰/۸۵ میلی‌متر	۰/۹۸ میلی‌متر

جدول ۳- نتایج دانسیتهٔ mRNA در دو گروه مورد و شاهد

	۰	۱	۲	۳
RANKL آزمایش	ــ	۳	۷	۵
RANKL کنترل	۱۲	۱	۲	ــ
RANKL آزمایش	ــ	ــ	۹	۶
RANKL کنترل	ــ	ــ	۸	۷

بحث

نتایج حاصل از مقایسهٔ فاصلهٔ دندان‌های مولر پیش و پس از انجام مطالعه، موید این مطلب بودند که شیوه به کار رفته برای ایجاد حرکت دندانی - که تغییر یافته روش مورد استفاده Kobayashi (۲۰۰۰) (۱۰) و Ashizawa (۱۹۹۸) (۱۱) بود - در ایجاد این حرکت موثر است. این مطلب با یافته‌های Low (۲۰۰۵) (۱۲) و سیفی (۲۰۰۳) (۱۳) مطابقت دارد.

با توجه به این نکته که تاکنون کسی به بررسی تاثیر ژن RANKL بر تحلیل استخوان ناشی از حرکات ارتودنتیک دندانی نپرداخته است، هیچ مطالعه‌ای نقیض یا موید یافته‌های حاصل از این بررسی نیست، با این وجود نتایج سایر محققان که به بررسی تاثیر این پروتئین بر تحلیل استخوان پرداخته‌اند، با نتایج حاصل از این بررسی مطابقت دارد.

اگر چه Ashizawa (۱۹۹۸) مدل خود را به منظور ایجاد حرکت دندانی طراحی کرده بود اما در یافته‌های خود میزان حرکت دندانی ایجاد شده را گزارش نکرده است و تنها به بیان میزان استخوان تولید شده در جریان آزمایش در دیواره‌های ساکت دندانی پرداخته است و تغییر قابل مشاهده‌ای نیز در میزان تولید استخوان در گروه مورد و شاهد گزارش نکرده است(۱۱). از این یافته می‌توان چنین نتیجه گرفت که میزان حرکت دندانی در گروه مورد و شاهد با هم تفاوت چشمگیری نداشته‌اند. استفاده Ashizawa از (۱۹۹۸) از یک صفحهٔ فلزی بر روی سطح اکلوزال دندان‌های مولر اول به منظور اتصال فنر به این دندان‌ها می‌تواند باعث ایجاد ترومای اکلوزال به عنوان یک عامل مداخله‌گر شده، در ایجاد حرکت دندانی اختلال ایجاد نماید. از سوی دیگر، دوره درمان در بررسی Ashizawa که شش روز به طول انجامید، در مقایسه با دوره درمانی بیست و یک روزه این مطالعه زمان کوتاهی برای ایجاد حرکت دندانی به نظر می‌رسد.

شیوهٔ به کار رفته برای خارج‌سازی و تکثیر RANKL mRNA از طریق ردیابی اختصاصی GAPDH به عنوان ژن کنترل‌گر، تایید شد. RANKL mRNA در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت. در واقع این مولکول در هیچ یک از ۱۵ نمونه گروه کنترل قابل ردیابی نبود و در تمام نمونه‌های گروه آزمایش که نیروهای ارتودنسی به دندان‌هایشان وارد شده بود، بروز متوسطی داشت. این مطلب با یافته‌های Silva (۲۰۰۸) که RANKL را در پریودنشیوم ۶۵ بیمار مبتلا به پریودنتیت مهاجم فعال و در نتیجه در استخوان در حال تحلیل گزارش کرده بود، همخوانی دارد(۱۴).

Garlet و همکاران (۲۰۰۷) به بررسی سیتوکاین‌های موجود در پریودنشیم در حین حرکات دندانی پرداختند. در این مطالعه، سیتوکاین‌های موجود در لیگامان پریودنتال مورد مطالعه قرار گرفتند. در سمت فشار، میزان بروز RANKL افزایش چشمگیری را نسبت به گروه مورد نشان داد(۱۵). این یافته نیز با یافته‌های مطالعهٔ حاضر همخوانی دارد.

در مطالعهٔ Nishijima (۲۰۰۶) که به بررسی میزان RANKL در مایع شیار لثه‌ای ده بیمار نوجوان که تحت درمان ارتودنسی قرار گرفته بودند، پرداخت مشخص شد

Archive of SID
www.SID.ir

که میزان RANKL در اثر وارد شدن نیرو به دندان افزایش می‌یابد(۱۶). این افزایش بروز در میزان RANKL بوسیلهٔ آزمایش‌های ELISA مورد بررسی قرار گرفت و نتایج مطالعه حاکی از آن بود که افزایش میزان RANKL در شیار لثه‌ای پدیده‌ای است که به میزان نیروی وارده و زمان وابسته است.

RANKL همچنین در تمایز و بلوغ استئوکلاست‌ها موثر شناخته شده است(۱۷). از آنجا که در روند تحلیل استخوان حضور RANKL ضروری است، این حقیقت در خصوص RANKL موید یافته‌های مطالعاتی است که در سطور پیشین به آنها اشاره شد.

یافته‌های مطالعات فوق تایید کنندهٔ نتایج مطالعه حاضر هستند، با این وجود از آنجا که هیچ مطالعهٔ مشابهی در این خصوص انجام نشده است، انجام مطالعات بیشتر که در شرایط غیر کنترل شدهٔ آزمایشگاهی انجام شده باشند برای تایید این مطالعه ضروری به نظر می‌رسند.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج حاصل شیوهٔ به کار رفته در ایجاد حرکات دندانی و ایجاد تحلیل ریشه و استخوان مرتبط با این حرکات موثر بوده و قابلیت استفاده شدن به عنوان یک شیوهٔ علمی جهت ارزیابی حرکات دندانی و تحلیل استخوان ناشی از آنها را داراست.

از سوی دیگر نتایج مطالعات PCR حاکی از آن بودند که mRNA مسئول کد کردن RANKL در هنگام تحلیل استخوان سمت مزیال دندان‌های گروه مورد به نسبت گروه شاهد بروز معنی‌داری داشته است. می‌توان از چنین یافته‌ای این گونه نتیجه‌گیری نمود که ژن RANKL در فرآیند تحلیل استخوان، در شرایط کنترل شدهٔ آزمایشگاهی بروز یافته، بر این فرآیند موثر است.

References

1. Ai H, Xu QF, Lu HF, Mai ZH, An AQ, Liu GP: Rapid tooth movement through distraction osteogenesis of the periodontal ligament in dogs. Chin Med J (Engl) 2008;121:455-462.
2. Sidiropoulou-Chatzigiannis S, Kourtidou M, Tsalikis L: The effect of osteoporosis on periodontal status, alveolar bone and orthodontic tooth movement. A literature review. J Int Acad Periodontol 2007;9:77-84.
3. Zhao H, Patrick Ross F: Mechanisms of osteoclastic secretion. Ann N Y Acad Sci 2007;1116:238-244.
4. Kirstein B, Chambers TJ, Fuller K: Secretion of tartrate-resistant acid phosphatase by osteoclasts correlates with resorptive behavior. J Cell Biochem 2006;98:1085-1094.
5. Nakajima R, Yamaguchi M, Kojima T, Takano M, Kasai K: Effects of compression force on fibroblast growth factor-2 and receptor activator of nuclear factor kappa B ligand production by periodontal ligament cells in vitro. J Periodontal Res 2008;43:168-173.
6. Yildirim S, Yapar M, Sermet U, Sener K, Kubar A: The role of dental pulp cells in resorption of deciduous teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008;105:113-120.
7. Nishimura M, Chiba M, Ohashi T, Sato M, Shimizu Y, Igarashi K, et al: Periodontal tissue activation by vibration: intermittent stimulation by resonance vibration accelerates experimental tooth movement in rats. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2008;133:572-583.
8. Yoshinaga Y, Ukai T, Abe Y, Hara Y: Expression of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand relates to inflammatory bone resorption, with or without occlusal trauma, in rats. J Periodontal Res 2007;42:402-409.
9. Jin Q, Cirelli JA, Park CH, Sugai JV, Taba M Jr, Kostenuik PJ, et al: RANKL inhibition through osteoprotegerin blocks bone loss in experimental periodontitis. J Periodontol 2007;78:1300-1308.

Archive of SID
www.SID.ir

10. Kobayashi Y, Hashimoto F, Miyamoto H, Kanaoka K, Miyazaki-Kawashita Y, Nakashima T, et al: Force-induced osteoclast apoptosis in vivo is accompanied by elevation in transforming growth factor beta and osteoprotegerin expression. J Bone Miner Res 2000;15:1924-1934.
11. Ashizawa Y, Sahara N: Quantitative evaluation of newly formed bone in the alveolar wall surrounding the root during the initial stage of experimental tooth movement in the rat. Arch Oral Biol 1998;43:473-484.
12. Low E, Zoellner H, Kharbanda OP, Darendeliler MA: Expression of mRNA for osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappa beta ligand (RANKL) during root resorption induced by the application of heavy orthodontic forces on rat molars. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2005;128:497-503.
13. Seifi M, Eslami B, Saffar AS: The effect of prostaglandin E2 and calcium gluconate on orthodontic tooth movement and root resorption in rats. Eur J Orthod 2003;25:199-204.
14. Silva N, Dutzan N, Hernandez M, Dezerega A, Rivera O, Aguillon JC, et al: Characterization of progressive periodontal lesions in chronic periodontitis patients: levels of chemokines, cytokines, matrix metalloproteinase-13, periodontal pathogens and inflammatory cells. J Clin Periodontol 2008;35:206-214.
15. Garlet TP, Coelho U, Silva JS, Garlet GP: Cytokine expression pattern in compression and tension sides of the periodontal ligament during orthodontic tooth movement in humans. Eur J Oral Sci 2007;115:355-362.
16. Nishijima Y, Yamaguchi M, Kojima T, Aihara N, Nakajima R, Kasai K: Levels of RANKL and OPG in gingival crevicular fluid during orthodontic tooth movement and effect of compression force on releases from periodontal ligament cells in vitro. Orthod Craniofac Res 2006;9:63-70.
17. Duan L, Vos P, Fan M, Ren Y: Notch is activated in RANKL-induced osteoclast differentiation and resorption. Front Biosci 2008;13:7064-7071.

Archive of SID

www.SID.ir