اثر اعمال نیروهای ارتودنسی به صورت تک محوره و چند محوره بر سلولهای بنیادی مزانشیمال انسانی

دکتر فهیمه سادات طباطبایی*، دکتر الهه وحیددستجردی**، دکتر هانیه نوجه‌دهیان**، دکتر نوشین حقیقی‌پور***، دکتر زینب جندقی****، دکتر فاطمه معیر****

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات نشان داده است که اِعمال نیروهای ارتودنسی منجر به استرین ماتریکس وسلولها می شود که تغییر شکل سلولها و سپس تمایز آنها به سلولهای دیگر را در پی خواهد داشت. هدف از این مطالعه بررسی اثر نیروهای کششی تک محوره و چندمحوره بر بیان مارکر سطحی CD90 در دو نوع سلول بنیادی مزانشیمال انسانی (سلولهای بنیادی اندومتریال و سلول بنیادی پالپ دندان) بود.

مواد و روشها: سلول‌های بنیادی پالپ دندان و اندومتریال، در پاساژ چهارم، به ۲ داربست سیلیکونی منتقل شدند. یکی از داربستها بعنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد و در مدیای معمولی قرار گرفت. داربست دیگر تحت بارگذاری کششی تک محوره یا چند محوره استاتیک قرار گرفت. دو هفته پس از کشت سلولها بر روی داربست، آزمایش ایمنوفلوئورسنت برای بررسی مارکر CD90 و عکسبرداری از سلولها با استفاده از میکروسکوپ فلوئورسنت انجام شد.

یافته‌ها: رنگ‌آمیزی با مارکر اختصاصی (CD90) سلول‌های بنیادی مزانشیمال، نشان داد که در حالی که این مارکر به میزان زیادی در گروه‌های کنترل بیان می شود، میزان بیان آن در گروههای تحت تاثیر نیروهای مکانیکی، به شدت کاهش یافته و قابل مشاهده نمی‌باشد.

نتیجه‌گیری: کاهش بیان مارکر سطحی CD90 در سلول‌های بنیادی، می‌تواند نشان دهنده تمایز سلول‌های بنیادی به انواع دیگری از سلول‌ها باشد که شناسایی آنها فاز دوم این مطالعه را تشکیل می‌دهد.

کلید واژگان: استرین تک محوره، استرین چند محوره، سلول بنیادی پالپ دندان، سلول بنیادی اندومتریال.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۱۲/۹ تاریخ اصلاح نهایی: ـــــ تاریخ تأیید مقاله: ۱۳۹۰/۱۲/۱۱

مجله دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دوره ۲۹، ویژه‌نامه، زمستان ۱۳۹۰، ۳۷۵- ۳۶۸

مقدمه

نیروهای مکانیکی، یکی از فاکتورهای بیولوژیک مهم هستند که بر روی بیان مارکرهای سطحی، پرولیفراسیون و تمایز سلولهای بنیادی تاثیرگذار هستند (۱). حرکت دندانها در حین ارتودنسی و اِعمال نیروهای کنترل شدهٔ مکانیکی، منجر به ایجاد واکنشهای بیولوژیکی در بافتهای اطراف دندانها می شود که با پاسخهای سلولی برای تطابق دادن سیستم با شرایط تغییر یافته همراه است. ساده ترین تفسیر برای درک رفتار سلولها در برابر نیروهای اعمال شده، می تواند با توضیح رفتار فنر در برابر اِعمال نیرو بیان شود. وقتی که فنر کشیده می شود، تغییر در طول فنر (استرین) رخ داده و تنشی داخلی، بنام استرس در فنر ایجاد می شود. مطالعات محققین نشان داده است که اعمال نیروهای ارتودنسی نیز، منجر به استرین ماتریکس و سلولها شده و بدنبال تغییر پتانسیل غشا و فعال شدن کانالهای یونی، تغییر شکل سلولها و سپس تمایز آنها به سلولهای دیگر رخ می دهد (۲). اگر ما از تغییرات تصادفی که در اثر حرکات ارتودنسی دندانها در بافتهای اطراف رخ می دهد مطلع باشیم، می توانیم اپلاینس خود را بگونه ای تطابق دهیم که تنها تغییرات

□ طرح مصوب معاونت پژوهشی دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

* استادیار گروه مواد دندانی، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

** دانشیارگروه ارتودنسی، دانشکدهٔ دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی.

*** نویسنده مسئول: استادیار بانک سلولی ایران. انستیتو پاستور.

E-mail:haghighipour@pasteur.ac.ir

**** دندانپزشک

Archive of SID

www.SID.ir

لازم، اعمال شده و از تغییرات غیر ضروری جلوگیری شود. علاوه بر این، اگر نوع تغییرات شناخته شود، محدودیتهای پیش رو در درمان نیز بهتر در نظر گرفته خواهند شد (۳). بنابراین، شناخت رابطهٔ بین استرینهای مکانیکی القا کننده و پاسخهای بیولوژیکی ناشی از آنها، ضروری بنظر می رسد. یکی دیگر از کاربردهای بالقوهٔ اعمال نیرو بر سلولها، در مهندسی بافت استخوان است. در مهندسی بافت، از سه فاکتور سلول بنیادی، داربست و مورفوژنهای القاکننده استفاده می شود. مورفوژنهای القاکننده، سیگنالهای خارج سلولی هدایت کنندهٔ مورفوژنز هستند، که با اضافه کردن فاکتورهای رشد و سایر مواد اختصاصی به محیط کشت، تامین می شوند. اما تحقیقات اخیر نشان داده است، که بجای این روش، می توان از سیگنالهای مکانیکی استفاده کرد که بدنبال اِعمال نیرو به سلول، دریافت می شوند (۴, ۵).

تاکنون مطالعات مختلف، اثرات نیروهای مکانیکی را بر تمایز سلولهای بنیادی به رده های مختلف، مورد بررسی قرار داده اند (۱, ۶-۹). سلولهایی که در اینگونه مطالعات، برای مطالعهٔ استئوژنز، مورد استفاده قرار گرفته اند، عمدتاً از سلولهای بنیادی مغز استخوان بوده اند که دارای جمعیت هتروژنی از سلولهای تمایز یافته و تمایز نیافته میباشد. بنابراین کاملاً مشخص نیست که آیا، سلولهای تمایز یافته، سلولهای پیش ساز استخوان و یا سلولهای بنیادی تمایز نیافته، به سیگنالهای مکانیکی پاسخ داده اند.

اندومتریوم رحم انسان دارای استرومای پرعروقی است که در شرایط فیزیولوژیک طبیعی، بیشتر از سایر بافتهای بدن رژنره شده و معمولا لایه های فانکشنال فوقانی آن در مدت خونریزی ماهانه زنان کنده شده و مجددا توسط لایه بازال تحتانی بازسازی می شود (۱۰). امروزه حضور سلولهای بنیادی در اندومتریوم، با استفاده از فلوسایتومتری و شناسایی مارکرهای مختلف بخصوص CD105 و CD90 به اثبات رسیده است (۱۱). همچنین حضور همزمان مارکرهای CD146 وβ PDGF-receptor بر روی سلولهای بنیادی اندومتریوم که به میزان زیادی وجود داشته اند این پیشنهاد را مطرح کرده است که منبع سلولهای بنیادی در اندومتریوم ، مشابه پالپ دندان و مغز استخوان میباشد (۱۲). با توجه به اینکه سلولهای بنیادی اندومتریال می توانند به سلولهای دیگری مانند ادنتوبلاست،کندروسیت و استئوبلاست تمایز یابند (۱۰, ۱۳)، می توان این فرضیه را مطرح نمود، که با بررسی اثر نیروهای مکانیکی تک محوره بر روی این سلولها که از دسته سلولهای مزانشیمی و مشابه مغز استخوان میباشند، می توان نسبت به رفتار سلولهای بنیادی مجاور دندان تحت اثر نیروهای ارتودنسی، پیش بینی مناسبی را انجام داد.

سلولهای بنیادی پالپ دندان، نیز تاکنون مورد مطالعات فراوانی قرار گرفته اند، مارکرهای مختلفی مانند CD90 در سطح آنها شناسایی شده و تمایز آنها به بافتهای مختلفی مورد بررسی قرار گرفته است (۱۴, ۱۵). با توجه به اینکه چندین مطالعه، اثر نیروهای کششی تک محوره را بر این سلولها مورد بررسی قرار داده بود (۱, ۸)، در این مطالعه، اثر نیروهای چندمحوره بر این سلولها، مورد بررسی قرار گرفت.

بر این اساس، هدف از این مطالعه، بررسی دو نوع نیروی کششی چندمحوره و تک محوره، بر بیان مارکر CD90 (Thy-1) در سلولهای بنیادی پالپ دندان و اندومتریوم بود.

مواد و روشها:

۱- تهیه نوارهای سیلیکونی بستر کشت سلول

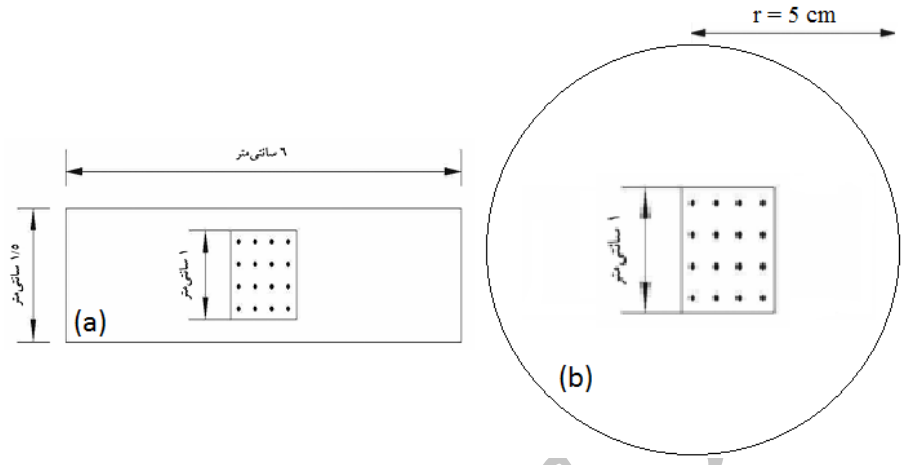
غشای سیلیکونی پخته شده با پلاتینیوم (Cured Silicone Platinum Membrane) با دارا بودن ویژگیهایی نظیر شفافیت، برای کاربردهای پزشکی، بسیار مناسب است .شفاف بودن بستر سیلیکونی، مشاهده و تصویربرداری از سلول ها به وسیله میکروسکوپ معکوس (Invert) را ممکن میسازد. این غشا از جنس پلی دی متیل سیلوکسان (Poly Dimethyl Siloxaen: PDMS) از انستیتو پاستور تهیه شد. غشای ساخته شده، برای قرار گرفتن در دستگاه اعمال نیروی تک محوره به صورت نوارهایی به طول ۶۰ میلی متر و عرض ۱۵ میلی متر بریده شد. برای دستگاه چند محوره، این غشا، به صورت دایره ای به شعاع ۵ سانتی متر بریده شد. در قسمت میانی هر دو غشا ، محدودهٔ ۱۰×۱۰ میلی متر با استفاده از نقاط رنگی علامت گذاری شد تا بتوان تغییرات مورفولوژیک دسته های سلولی را قبل و بعد ازآزمایش مورد بررسی قرار داد (شکل ۱).

۲- اصلاح خواص سطحی سیلیکون با پوششی از کلاژن

به منظور فراهم نمودن شرایط مناسبی برای چسبیدن سلو لها به غشاهای سیلیکونی، عملیات سطحی برای بهبود خواص سطحی، و پوشش سطح با یک ماده مناسب آبدوست و زیست سازگار لازم است. در تحقیق حاضر، پوشش غشای سیلیکونی با کلاژن (Type A, Sigma,

www.SID.ir

(Germany) انجام شد. به این منظور، کلاژن رقیق شده در PBS (phosphate buffer saline)، در مرکز غشا قرار گرفته (شکل ۲) و پس از خشک شدن، و شستشوی غشا با PBS (sigma)، تا زمان انتقال سلولها، غشا در یخچال نگهداری شد.



***شکل ۱*- غشای سیلیکونی و نمایش ابعادی محدودهٔ علامت گذاری شده برای کاشت سلول در دستگاه تک محوره (a) و چند محوره (b).**

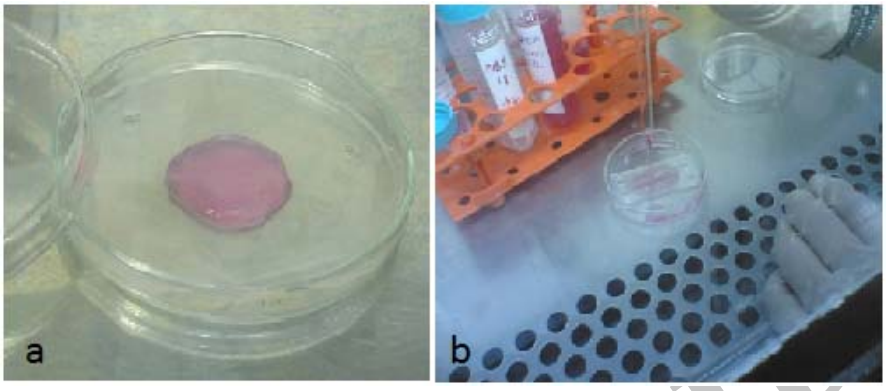
شکل ۱- کلاژن بر روی غشای سیلیکونی قبل از خشک شدن

۳- انتقال سلولها به داربست

سلولهای بنیادی پالپ دندان و سلولهای اندومتریال از آزمایشگاه بیولوژی سلولی و مولکولی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهیه شد. این سلولها، بوسیله بررسی مارکرهای سطحی (با استفاده از فلوسایتومتری) و تمایز به رده های سلولی مختلف، شناسایی شده اند. برای کشت سلولها، از محیط کشت DMEM (Gibco) حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاو (FBS)، ۲mM ال-گلوتامین، و ۱۰۰ واحد در میلی‌لیتر پنی سیلین و ۱۰۰mg در میلی‌لیتر استرپتومایسین در داخل انکوباتور با شرایط ۵٪ CO_2 و دمای ۳۷ $^{\circ}C$ استفاده شد. در پاساژ چهارم هر دسته از سلولهای بنیادی پالپ و اندومتریال، تعداد ۱۰۰۰۰ سلول با استفاده از هموسایتومتر (لام نئوبار) شمارش شدند و روی دو داربست، در محدودهٔ یک سانتی متر مربعی از بستر سیلیکونی که علامت گذاری شده، منتقل شدند. در هر دسته، یک گروه از سلولها بعنوان گروه کنترل در پتری دیش استریل و در داخل انکوباتور قرار گرفتند. داربست های گروه آزمایش، پس از ۲۴ ساعت قرار گرفتن

www.SID.ir

در انکوباتور، با استفاده از میکروسکوپ اینورت (Nikon, Japon)، بررسی شده و پس از اطمینان از چسبندگی مناسب سلولها، آماده بارگذاری شدند.

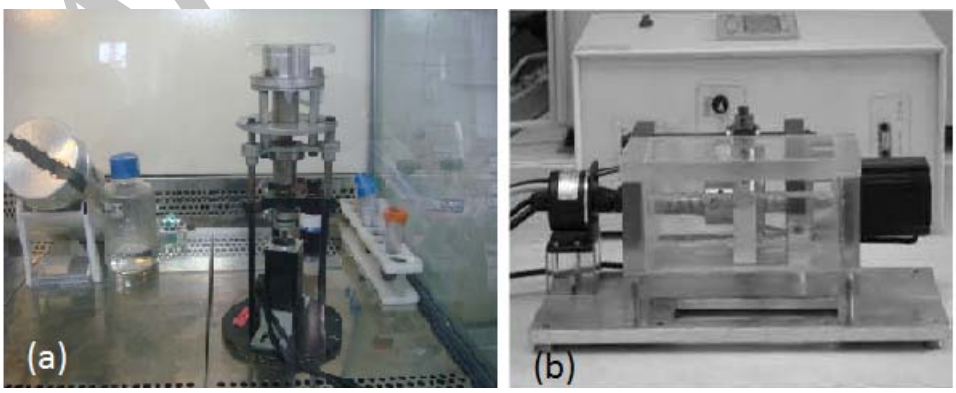


شکل ۳- انتقال سلولهای بنیادی پالپ دندان به داربست چندمحوره (a) ، و سلولهای بنیادی اندومتریال به داربست تک محوره (b)

۴- بارگذاری سلول ها

در تحقیقات آزمایشگاهی، بارگذاری و اعمال کشش بر سلول ها، معمولاً از طریق کشش تک محوره یا چند محورهٔ بستر الاستیک انجام می شود، در این مطالعه از دستگاه کشش چند محورهٔ طراحی شده در انستیتوپاستور، برای بارگذاری سلولهای بنیادی پالپ دندان، و از دستگاه کشش تک محورهٔ طراحی شده در انستیتوپاستور، برای بارگذاری سلولهای بنیادی اندومتریال استفاده شد. دستگاه با قابلیت کشش ثابت یا دوره ای، با فرکانس ها و درصد کشش های گوناگون ساخته شده است. در این مطالعه، با توجه به استاتیک بودن نیروهای ارتودنسی، از قابلیت کشش ثابت دستگاه، استفاده شد.

بسترهای سیلیکونی گروههای آزمایش، در فک استیلی دستگاهها، درگیر شدند و تحت بارگذاری در محیط کشت معمولی قرار گرفتند. با توجه به اینکه در آزمایشات معمول ارتودنسی، سرعت استرین ۱-۰/۱ میلی متر در دقیقه است(۱۶)، بارگذاری از نوع استاتیک (ثابت)، و میزان استرین ۳ درصد به مدت ۲ هفته تعیین شد (شکل ۴).



شکل ۴- شمای کلی دستگاه کشش چند محوره (a) و تک محوره (b).

Archive of SID
www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

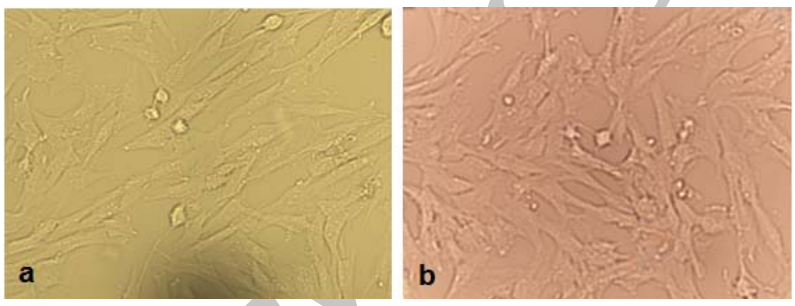
۵- ارزیابی سلول های بنیادی پس از بارگذاری

دو هفته پس از کشت سلولها بر روی داربست، سلولهای هر دو گروه آزمایش و کنترل، با PBS شسته شده و به مدت نیم ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد با پارافرمالدهید (Merc,Germany) ۴ درصد فیکس شدند، پس از شستشو با استفاده از goat serum (Santa Cruz) ۱/۵ درصد، به مدت یک ساعت آنتی بادیهای غیر اختصاصی، بلوکه شده و سپس انکوباسیون با آنتی بادی اولیه CD90 (Santa Cruz) به مدت یک شب در دمای ۴ درجه سانتیگراد انجام شد. بدنبال آن، انکوباسیون با آنتی بادی ثانویه (anti-mouse IgG-FITC (Santa Cruz) به مدت ۳ ساعت انجام شد. در آخرین مرحله پس از شستشو با PBS، عکسبرداری از سلولها با استفاده از میکروسکوپ فلوئورسنت (Novel, China) انجام شد.

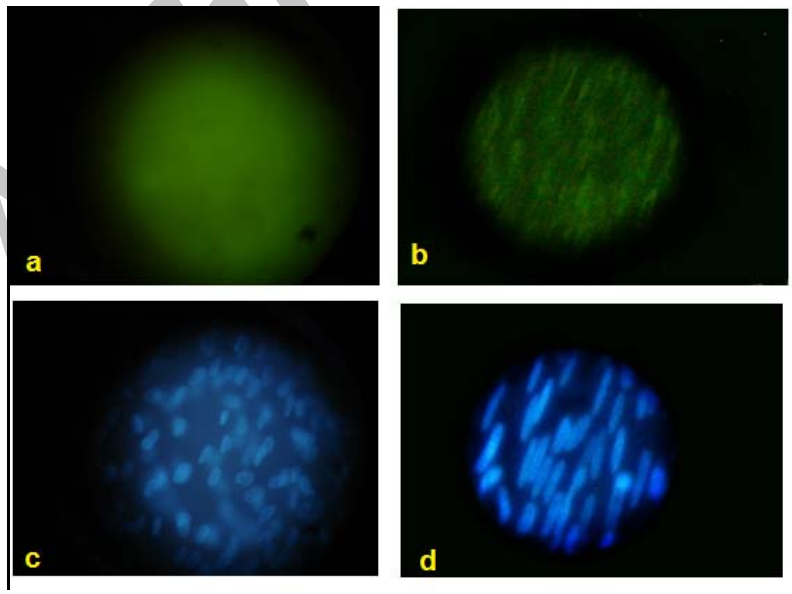
یافته‌ها:

سلولهای کشت داده شده بر روی داربستهای سیلیکونی پوشش یافته با کلاژن، پس از ۲۴ ساعت، چسبندگی خوبی از خود نشان دادند (شکل ۵).

پس از دوره بارگذاری دو هفته ای در دستگاه کشش، رنگ آمیزی با مارکر اختصاصی سلولهای بنیادی مزانشیمال (CD90)، نشان داد که در حالیکه این مارکر به میزان زیادی در گروههای کنترل بیان می شود، در گروههای آزمایش این مارکر بیان نمی شود (شکل ۶، a-b). این وضعیت در هر دو گروه سلولهای بنیادی پالپ و اندومتریال، کاملاً مشابه بود. در هر دو گروه، رنگ آمیزی DAPI وجود سلولها را بر روی هر دو داربست آزمایشی و کنترل، نشان داد (شکل ۶، c-d).



شکل ۵- تصویر سلولهای بنیادی اندومتریال (a) و پالپ دندان (b) پس از ۲۴ ساعت کشت، بر روی داربست سیلیکونی.



شکل ۵- رنگ آمیزی ایمنوفلورسنت سلولها با مارکر CD90، در گروه کنترل (b) و گروه تحت اثر نیروهای مکانیکی (a)، رنگ آمیزی DAPI در گروه کنترل (c) و گروه تحت اثر نیروهای مکانیکی (d)

www.SID.ir

بحث:

مطالعات نشان داده است که استئوژنزی که در حین حرکت دندانها در ارتودنسی رخ می دهد، در اثر مولکولهای القا کننده ای است که بوسیلهٔ استرین کششی تحریک شده و بر روی سلولهای بنیادی یا پیش ساز استخوان در مجاورت لیگامان پریودنتال اثر می کنند که در نهایت منجر به تشکیل استخوان می شود (۱۷). در این مطالعه، سلولهای بنیادی پالپ دندان، پس از کشت بر روی غشای سیلیکونی پوشش یافته با کلاژن، در معرض استرین کششی چند محورهٔ استاتیک قرار گرفتند؛ در حالیکه سلولهای بنیادی اندومتریال، پس از کشت بر روی غشا، در معرض استرین کششی تک محورهٔ استاتیک قرار گرفتند. این تحریک مکانیکی، به مدت ۲ هفته، به سلولها اِعمال شد. تحقیقات آزمایشگاهی مختلف، نتایج متفاوتی را در پاسخ به اعمال نیروهای مکانیکی بر سلولهای بنیادی گزارش کرده اند و این نتایج بعضاً متناقض بوده است. در حالیکه Lee و همکارانش در مطالعه خود گزارش نمودند که استرسهای مکانیکی باعث تمایز سلولهای بنیادی پالپ دندان به ادنتوبلاستها می شود (۱۸)، بعضی از محققین گزارش داده اند که این نیروها، هیچ تاثیری بر سلولهای بنیادی پالپ دندان ندارند (۱۹). Cai و همکارانش، پس از قرار دادن سلولهای بنیادی پالپ دندان در محیط استئوژنیک و اعمال نیروی کششی تک محوره بر سلولها، به این نتیجه رسیدند که اعمال نیرو مانع از تمایز استئوژنیک سلولها می شود. در این مطالعه استرین اعمال شده 2000 με با فرکانس 1 Hz بود و سلولها به مدت ۶ ساعت تحت تاثیر نیرو قرار گرفتند (۱).

Ji-Yeon و همکاران، در سال ۲۰۱۱، اثر ترکیبی استرین مکانیکی و الگوی سطحی داربست را بر تمایز سلولهای بنیادی مغز استخوان مورد مطالعه قرار دادند. در این مطالعه، محیط کشت کاملا فاقد فاکتورهای تمایز دهنده استئوژنیک بود و نتیجهٔ مطالعه نشان داد که استرین ۳ درصد، منجر به تمایز به استئوبلاستها، و استرین ۱۰ درصد، منجر به تمایز به سلولهای عضلهٔ صاف می شود (۲۰).

بنظر می رسد انواع مختلف استرسهای مکانیکی، تاثیرات متفاوتی را بر سلولهای بنیادی اعمال می کنند (۲۱) و از آنجا که مدت زمان اعمال نیرو، نوع نیروی اعمال شده، فرکانس تحریکات و نوع سلولهای بنیادی در تحقیقات مختلف، متفاوت است، مقایسه نتایج این مطالعات مشکل بنظر می رسد (۲۲, ۲۳).

مطالعات نشان داده است که بیان مارکر سطحی CD90 (Thy-1) در اثر تمایز سلولهای بنیادی به سمت استئوبلاستها، کاهش می یابد (۲۴). در مطالعه ای که Wiesmann و همکاران بر روی بیان مارکر سطحی CD90 پس از اعمال نیروهای کششی بر سلولهای بنیادی مغز استخوان انجام دادند، عدم بیان این مارکر گزارش شد (۲۵). همچنین Han و همکاران نیز، در بررسی اثر استرین کششی تک محورهٔ دینامیک بر سلولهای بنیادی پالپ دندان، کاهش بیان CD90 را گزارش کردند (۸). در مطالعهٔ حاضر، اثر نیروهای کششی استاتیک بر بیان مارکر سطحی CD90 (Thy-1) در سلولهای بنیادی مزانشیمالی بررسی شد. مارکر سطحی CD90 (Thy-1) معمولا بعنوان مارکر مثبت سلولهای بنیادی مزانشیمال مورد استفاده قرار می گیرد (۲۵). در این مطالعه، این مارکر در سلولهای گروه کنترل بخوبی بیان گردید، در حالیکه در سلولهای تحت تاثیر نیروهای مکانیکی، میزان بیان آن به شدت کاهش یافته بود. تاکنون هیچ مطالعه ای در مورد اثر نیروهای مکانیکی تک محوره بر سلولهای بنیادی اندومتریال انجام نشده بود. همچنین اثر نیروهای چندمحوره بر سلولهای بنیادی پالپ دندان، برای اولین بار انجام شد. در اغلب مطالعات انجام شده، نیروهای اعمال شده از نوع دینامیک و بصورت دوره ای بود، اما در این مطالعه برای مشابه نمودن محیط کار به وضعیت اعمال نیروهای ارتودنسی، نیروها بصورت استاتیک انتخاب شدند. همچنین حداقل استرین برای دستگاه انتخاب شد تا نیروی اعمال شده به حداقل برسد.

یکی از محدودیتهای این مطالعه، استفاده از یک ژئومتری ثابت داربست بود. واقعیت آنست که در اپلاینسهای ارتودنسی، از نظر بیولوژیکی، نیروی وارد شده به براکت، حائز اهمیت نیست. بلکه، نیروی وارد شده بر واحد سطح ریشهٔ دندان است که به لیگامان پریودنتال و استخوان منتقل می شود و برای یک نیروی معین وارد شده به براکت، با افزایش سطح ریشه، میزان نیرو بر واحد سطح کاهش می یابد. بنابراین در مطالعات بعدی، بهتر است دستگاه بگونه ای طراحی شود که امکان استفاده از داربستهایی با ژئومتریهای مختلف ممکن باشد. محدودیت دیگر این مطالعه، استفاده از داربست سیلیکونی بود. در حالیکه دندان و

www.SID.ir

استخوان اطراف آن، از ترکیب مواد آلی و معدنی ساخته شده اند؛ بنابراین، استفاده از یک داربست کامپوزیتی در این مطالعات، شرایط آزمایشگاهی را تا حد امکان، به شرایط In vivo نزدیک خواهد کرد. در نهایت، کیفی بودن نتایج مطالعه، امکان مقایسه دقیق دو گروه آزمایش را که تحت تاثیر دو نوع استرین متفاوت بودند، فراهم نکرد و لزوم انجام مطالعه ای کمّی مانند Real time RT-PCR را نشان داد.

نتیجه‌گیری:

این مطالعه نشان داد که بارهای مکانیکی تک محوره و چند محوره که در هنگام اِعمال نیروهای ارتودنسی وارد می شوند، منجر به کاهش بیان مارکر سطحی در سلولهای بنیادی مزانشیمال نسبت به گروه کنترل خواهند شد. این مطلب، بیان کننده تمایز سلولها به انواع دیگری از سلولهاست که شناسایی آنها، فاز دوم این مطالعه را تشکیل می دهد. هر چند علت دقیق تاثیر تحریکات مکانیکی بر تکثیر و تمایز سلولها مشخص نشده است، اما بنظر می رسد، تاثیر سیگنالهای مکانیکی بر گیرنده های غشاء سلولی و تاثیر بر انتقال گازها و مواد غذایی لازم به سلولها در این امر موثر باشد. فاز اول این مطالعه، تفاوتی را در پاسخ سلولهای گروه آزمایش، به نوع استرین (از نظر تک محوره یا چند محوره بودن) نشان نداد.

تقدیر و تشکر:

این مقاله، حاصل دو پایان نامهٔ دکترای عمومی دکتر فاطمه معیر و دکتر زینب جندقی، به شماره ۳۰۵۳ و به راهنمایی دکتر فهیمه سادات طباطبایی، مربوط به دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی می‌باشد.

References

1. Cai X, Zhang Y, Yang X, Grottkau BE, Lin Y. Uniaxial cyclic tensile stretch inhibits osteogenic and odontogenic differentiation of human dental pulp stem cells. J Tissue Eng Regen Med 2011;5:347-53.

2. Henneman S, Von den Hoff J, Maltha J. Mechanobiology of tooth movement. Eur J Orthod 2008;30:299.

3. Wise G, King G. Mechanisms of tooth eruption and orthodontic tooth movement. JDR 2008;87:414-34.

4. Ignatius A, Blessing H, Liedert A, Schmidt C, Neidlinger-Wilke C, Kaspar D, et al. Tissue engineering of bone: Effects of mechanical strain on osteoblastic cells in type i collagen matrices. Biomaterials 2005;26:311-8.

5. Dado D, Sagi M, Levenberg S, Zemel A. Mechanical control of stem cell differentiation. Regen Med 2012;7:101-16.

6. Ghazanfari S, Tafazzoli-Shadpour M, Shokrgozar MA. Effects of cyclic stretch on proliferation of mesenchymal stem cells and their differentiation to smooth muscle cells. Biochem Biophys Res Commun 2009;388:601-5.

7. Haghighipour N, Tafazzoli-Shadpour M, Shokrgozar MA, Amini S. Effects of cyclic stretch waveform on endothelial cell morphology using fractal analysis. Artif Organs 2010;34:481-90.

8. Han MJ, Seo YK, Yoon HH, Song KY, Park JK. Effect of mechanical tension on the human dental pulp cells. Biotechnol Bioprocess Eng 2008;13:410-7.

9. Jagodzinski M, Drescher M, Zeichen J, Hankemeier S, Krettek C, Bosch U, et al. Effects of cyclic longitudinal mechanical strain and dexamethasone on osteogenic differentiation of human bone marrow stromal cells. Eur Cell Mater 2004;7:C41.

10. Gargett C. Uterine stem cells: What is the evidence? Hum Reprod Update 2007;13:87.

11. Gargett CE. Identification and characterisation of human endometrial stem/progenitor cells. Aust N Z J Obstet Gynaecol 2006;46:250-3.

12. Schwab K, Gargett C. Co-expression of two perivascular cell markers isolates mesenchymal stem-like cells from human endometrium. Hum reprod 2007;22:2903.

Archive of SID

www.SID.ir

13. Ai J, Tabatabaei FS, Jafarzadeh Kashi TS. Human endometrial adult stem cells may differentiate into odontoblast cells. Hypothesis 2009;7.

14. Huang GTJ, Sonoyama W, Chen J, Park SH. In vitro characterization of human dental pulp cells: Various isolation methods and culturing environments. Cell Tissue Res 2006;324:225-36.

15. Zhang W, Walboomers XF, Shi S, Fan M, Jansen JA. Multilineage differentiation potential of stem cells derived from human dental pulp after cryopreservation. Tissue engin 2006;12:2813-23.

16. Ren Y, Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM. Optimum force magnitude for orthodontic tooth movement: A systematic literature review. Angle Orthod 2003;73:86-92.

17. Krishnan V, Davidovitch Z. Cellular, molecular, and tissue-level reactions to orthodontic force. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2006;129:469. e1-. e32.

18. Lee SK, Lee CY, Kook YA, Kim EC. Mechanical stress promotes odontoblastic differentiation via the heme oxygenase-1 pathway in human dental pulp cell line. Life Sci 2010;86:107-14.

19. Subay RK, Kaya H, Tarim B, Subay A, Cox CF. Response of human pulpal tissue to orthodontic extrusive applications. J Endod 2001;27:508-11.

20. Ji-Yeon J, Shi Woo L, Ji Won S, ChiWoong M, Su-Hyang K, Dong Hwa K, et al. Combined effects of surface morphology and mechanical straining magnitudes on the differentiation of mesenchymal stem cells without using biochemical reagents. J Biomed Biotechnol 2011;2011.

21. Zaidi M. Skeletal remodeling in health and disease. Nat Med 2007;13:791-801.

22. Owan I, Burr DB, Turner CH, Qiu J, Tu Y, Onyia JE, et al. Mechanotransduction in bone: Osteoblasts are more responsive to fluid forces than mechanical strain. Am J Physiol Cell Physiol 1997;273:C810-C5.

23. Kaspar D, Seidl W, Neidlinger-Wilke C, Beck A, Claes L, Ignatius A. Proliferation of human-derived osteoblast-like cells depends on the cycle number and frequency of uniaxial strain. J Biomech 2002;35:873-80.

24. Chen XD, Qian HY, Neff L, Satomura K, Horowitz MC. Thy-1 antigen expression by cells in the osteoblast lineage. J Bone Miner Res 1999;14:362-75.

25. Wiesmann A, Buhring H, Mentrup C, Wiesmann HP. Decreased cd90 expression in human mesenchymal stem cells by applying mechanical stimulation. Head Face Med 2006;2.

Archive of SID

www.SID.ir