لیزرپزشکی؛ ۱۳۹۲، دورهٔ ۱۰، شمارهٔ ۱، صفحات: ۲۶ – ۲۱.

مقاله پژوهشی

تکثیر و تمایز ادونتوژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشتق از مغز استخوان به‌وسیلهٔ امواج فراصوت پیوسته با شدت پایین

مریم موسی‌خانی[۱]
لیلا روحی[۲]
محمد باقر شیران[۳]
داریوش همراهی[۴]

۱کارشناسی ارشد،گروه فیزیولوژی جانوری، دانشکدهٔ علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
[۲]استادیار زیست‌شناسی تکوین جانوری، گروه فیزیولوژی جانوری، دانشکدهٔ علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
[۳]استادیار، گروه فیزیک پزشکی، دانشکدهٔ علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
[۴]کارشناسی ارشد فیزیک‌پزشکی، مرکز پرتودرمانی صدرا، قم، ایران

نویسنده* مسئول: لیلا روحی ، تلفن ۰۹۱۲۶۰۴۳۳۰۵
پست الکترونیک: Rouhi_59@yahoo.com

خلاصه

مقدمه: بیماری‌های دندانی برروی سلامت و کیفیت زندگی میلیون‌ها انسان در جهان مؤثر هستند. در این مطالعه تأثیرات امواج فراصوت پیوسته با شدت پایین بر تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان به سلول‌های ادونتوبلاست‌ها که مسئول ساخت و ترمیم عاج هستند، مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: سلول‌های مغز استخوان رت در محیط محتوی سرم جنین گاوی (FBS) قرار گرفتند و تا پاساژ ۳ کشت داده شدند. سلول‌ها به سه‌گروه (فراصوت، محیط تمایز و فراصوت و محیط تمایز) تقسیم شدند. سلول‌ها در معرض موج فراصوت در مد پیوسته با فرکانس ۱مگاهرتز و با شدت ۳۵۵ mW/cm^{-2} قرار گرفتند. توان زیستی، تکثیر و تمایز ادونتوژنیک سلول‌ها پس از تیمار با فراصوت ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتیجهٔ تست MTT نشان داد که توان زیستی و تکثیر سلول‌ها هنگامی‌که در معرض تابش فراصوت قرار می‌گیرند به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل بالاتر بود ($P<۰/۰۵$). آنالیز بیان ژنی افزایش معنی‌داری را در بیان ژن‌های ادونتوژنیک در گروه محیط تمایز و فراصوت نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد ($P<۰/۰۱$).

واژه‌های کلیدی: فراصوت پیوسته با شدت پایین، سلول‌های بنیادی مزانشیمی مغز استخوان رت، تمایز ادونتوژنیک

مقدمه

سلول‌های بنیادی بزرگسال با توانایی خودتجدیدی و تمایز چندگانه نقش مهمی را در تکوین بافت جنینی بازی می‌کنند و به‌عنوان یک منبع سلولی پیش‌ساز برای ترمیم بافت و پزشکی ترمیمی[۱] به‌کار می‌روند[۱]. ترمیم بافت به‌وسیلهٔ سلول‌های بنیادی در مدل‌های حیوانی برای بسیاری از بافت‌ها ازقبیل غضروف مفصلی، استخوان، تاندون، ماهیچه و بافت چربی انجام شده است. مطالعاتی از قبیل پیوند مستقیم تودهٔ سلولی[۲] و یا ترمیم بافت به‌وسیلهٔ ترکیب سلول‌های بنیادی با اسکافولدهای سازگار[۳]ما را قادر می‌سازد که استراتژی‌های جدید و امیدبخشی را برای ترمیم بافت‌های سخت به‌ویژه برای بازسازی دندان به‌کار بریم. سلول‌های بنیادی مغز استخوان (BMSCs)[۲] که می‌توانند به چندین دودمان سلولی تمایز یابند، کاندیدای مناسبی برای ترمیم بافت دندان و استخوان می‌باشند[۴]. تشکیل ساختارهای سخت (استخوان و دندان) و ترمیم آن‌ها با دخالت کموتاکسی، تکثیر سلولی، تمایز و سنتز ماتریکس خارج سلولی و درنتیجه برهمکنش بین سیگنال‌های بیوشیمیایی، بیومکانیکی، سلولی و هورمونی صورت می‌گیرد[۵]. طبق مطالعات گذشته، امواج فراصوت با شدت پایین بهبود شکستگی‌های استخوان را در مدل‌های حیوانی تسریع می‌کنند و سبب افزایش قدرت مکانیکی می‌شوند[۶و۷]. امواج فراصوت غیر تهاجمی هستند و کاربرد آسان دارند، همچنین به‌دلیل شدت پایین، اثرهای گرمایی و مخرب ندارند. بررسی تأثیر اموج فراصوت بر سلول‌های جداشده در محیط آزمایشگاهی نشان داد که تحریک فراصوت منجر به افزایش سنتز پروتئین می‌شود[۸و۹]. مطالعات گذشته درمورد تأثیر فراصوت بر تمایز کندروژنیک نشان دادند که این امواج می‌توانند سنتز پروتئوگلیکان‌ها، کندروئیتین‌سولفات[۱۰] و بیان

[1]Regenerative medicine
[2]Bone marrow mesenchymal stem cells

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-03]

اگریکان[۱۱] را افزایش دهند. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که امواج فراصوت ممکن است سنتز پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی را تحریک کنند. تحقیقات بسیاری نشان‌دهندهٔ این موضوع هستند که فراصوت توانایی تغییر در غشای سلول(چسبندگی سلولی، تأثیر در تراوایی غشاء، جریان کلسیم و توان تکثیر سلول‌ها) و نیز توانایی فعال‌سازی مسیرهای گذردهی سیگنالی که منجر به بیان ژنی می‌شود را دارا می‌باشد. تابش فراصوت باعث افزایش مقدار کلسیم درون سلولی می‌شود و سلول از آن به‌عنوان کوفاکتوری که می‌تواند مسیرهای گذردهی سیگنالی را فعال کند استفاده می‌کند و نتیجهٔ آن بیان ژنی است[۱۲].

بنابراین هدف این مطالعه بررسی این فرضیه است که آیا امواج فراصوت پیوسته با شدت پایین به‌عنوان یک عامل فیزیکی می‌توانند تکثیر و تمایز ادونتوژنیک BMSCs را پیش ببرند؟

روش بررسی

جداسازی و کشت BMSCs: پس از کشتن رت نژاد ویستار ۶-۴ هفته‌ای، استخوان‌های فمور و تیبیا جدا شدند و پس از پاک‌کردن آن‌ها از بافت نرم اطراف، داخل محیط کشت[۳]DMEM (Gibco, USA) حاوی[۴]FBS ۱۵ درصد(Gibco, USA) و آنتی‌بیوتیک در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس لوله‌ها به زیر هود منتقل گردید. دو انتهای استخوان‌ها قطع گردید و با استفاده از سر سوزن۲۲مغز استخوان‌ها به‌روش فلاشینگ[۵] در داخل محیط کشت قرار گرفت. سلول‌ها با دور۱۲۰۰ به‌مدت۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و پلت سلولی در ظرف مناسب در شرایط دمایی ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد، CO2 ۵ درصد و رطوبت اشباع انکوبه شدند. پس از ۴۸ ساعت، سلول‌های غیرچسبنده با انجام تعویض محیط برداشته‌شدند و پس از آن محیط سلول‌ها هفته‌ای دوبار تعویض شد. زمانی‌که ۹۰-۸۰ درصد کف ظرف توسط سلول‌ها پر شد، سلول‌ها توسط Trypsin/EDTA ۰/۲۵ درصد جدا و پاساژ داده شدند. از سلول‌های پاساژ ۲ برای انجام آنالیزها استفاده شد.

آنالیز فلوسایتومتری: سلول‌ها پس از تیمار با Trypsin/EDTA در تراکم ۲×۱۰^{۵} با آنتی‌بادی‌های اولیه به‌مدت۳۰ دقیقه انکوبه شدند. برای تعیین ماهیت سلول‌ها از آنتی‌بادی CD90 متصل به FITC(AbDSerotec,Raleigh,NC)، مارکر ویژهٔ سلول‌های بنیادی مزانشیمی و آنتی‌بادی CD34(Abcam,Cambridge, MA)، مارکر سلول‌های هماتوپوئیتیک استفاده شد. سلول‌ها پس از شستشو به‌مدت۲۰ دقیقه با آنتی‌بادی ثانویه متصل به FITC انکوبه شدند. پس از شستشو، سلول‌ها به‌وسیلهٔ دستگاه فلوسیتومتری(BD, FACSCalibur) آنالیز شدند.

تمایز استئوژنیک و آدیپوژنیک BMSCs: برای تمایز استئوژنیک پس‌از اینکه سلول‌های پاساژ۲، ۸۰ درصد کف ظرف را پر کردند، محیط رشد سلولی با محیط القاء تمایز حاوی ۵۰mg/m آسکوربیک اسید ۲ فسفات، ۱۰nM دگزامتازون و ۱۰Mmبتا گلیسرول‌فسفات به‌مدت۳ هفته تعویض شد سپس سلول‌ها توسط رنگ آلیزارین رِد رنگ‌آمیزی شدند. برای تمایز آدیپوژنیک، محیط حاوی۱۰۰nMدگزامتازون و ۵۰mg/ml ایندومتاسین به‌مدت۳ هفته استفاده شد سپس سلول‌ها توسط رنگ اویل رِد رنگ‌آمیزی شدند.

تابش فراصوت: دستگاه فراصوت مدل Phyaction 190i, Germany با فرکانس۱ مگاهرتز برای کاهش و حذف پدیدهٔ حفره‌سازی انتخاب شد. کالیبراسیون منبع فراصوت با استفاده از روش فشار تابشی انجام شد. در این روش با استفاده از یک ترازوی با دقت بالا فشار تابشی موج فراصوت اندازه‌گیری گردید. ناحیهٔ دورترین فاصلهٔ محوری با استفاده از کاغذ و رنگ به‌دست آمد و از شکل به‌دست‌آمده برای میدان فراصوت، برای محاسبهٔ بیشترین شدت[۶] استفاده شد. برای یافتن منطقهٔ دقیق آن از ترموکوپل نوع T با ضخامت حدود ۰/۵ میلی‌متر استفاده گردید. بعد از یافتن LAM[۷] شدت و زمان مناسب برای آزمایش برمبنای ثابت بودن دمای درون ظرف کشت در ناحیهٔ LAM و در پلیت ۱۲چاهکی به‌دست آمد(کمتر از۱درجهٔ سانتی‌گراد افزایش دما مجاز بود). علت استفاده از ظرف کشت ۱۲چاهکی انطباق آن با ابعاد میدان فراصوت بود. برای اطمینان از صحت آزمایش، دما در دوطرف درون و بیرون چاهک و نیز در۲میلی‌متری کف آن در محیط آب برای شدت انتخاب‌شده($۳۵۵\ mW/cm^{-2}$)به‌دست‌آمد. برای تمامی آنالیزهای بررسی‌شده سلول‌ها به‌طور روزانه به‌مدت۵ دقیقه تابش می‌دیدند.

تست MTT: برای تعیین توان زیستی سلول‌ها پس از تیمار با امواج فراصوت از تستMTT استفاده‌شد. بدین‌ترتیب که سلول‌های پاساژ۲ از گروه کنترل (بدون فراصوت) و گروه فراصوت (US[۸]) در پلیت‌های۹۶چاهکی در تراکم[۴]۱۰ سلول/چاهک کشت داده شدند. پس از اتصال سلول‌ها به نسبت ۱:۵ محلولMTT به

[3] Dublecco's Minimum Essential Medium
[4] Fetal bovine serum
[5] Flushing
[6] Peak Intensity
[7] Last Axial Maximum)
[8] Ultra sound

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-03]

هر چاهک اضافه شد و به‌مدت۱ساعت انکوبه شدند. سپس کریستال‌های تشکیل‌شده توسط محلول DMSO[9]حل شد و جذب آن‌ها در طول موج ۵۴۰ نانومتر توسط دستگاه الایزا خوانده‌شد.

تمایز ادونتوژنیک در محیط آزمایشگاه[10]: برای القاء تمایز همراه با فراصوت، سلول‌ها در تراکم۲×۱۰^{۴} سلول/سانتی‌متر در پلیت‌های ۱۲چاهکی کشت داده شدند. بعدازاینکه سلول‌ها کف ظرف را پر کردند، برای القاء تمایز، سلول‌ها در معرض فراصوت و محیط تمایز حاوی۵۰ µg/ml آسکوربیک اسید، ۱۰ mM بتاگلیسرول فسفات و ۱۰$^{-۷}$ دگزامتازون قرار می‌گیرند.

گروه‌های آزمایشی: گروه ۱، سلول‌ها به‌مدت۲۱ روز تنها تحت تأثیر فراصوت قرار گرفتند(US). گروه ۲، سلول‌ها به‌مدت۲۱ روز تنها تحت تأثیر محیط تمایز ادونتوژنیک قرار گرفتند(Diff). گروه ۳، سلول‌ها هم در معرض فراصوت و هم محیط تمایز قرار گرفتند (US+Diff) و گروه کنترل، سلول‌ها نه در معرض فراصوت و نه محیط تمایز بودند(Cont).

آنالیز RT-PCR نیمه‌کمّی: سلول‌ها در تمام گروه‌های آزمایشی در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ از لحاظ بیان ژن‌های ادونتوژنیک نظیر: آلکالین‌فسفاتاز (ALP)، استئوکالسین (OC)، دنتین‌سیالوفسفوپروتئین (DSPP)، بون سیالوپروتئین (BSP) بررسی شدند و ژن GAPDH به‌عنوان ژن مرجع[11] انتخاب شد. بدین‌منظور RNA کل سلول‌های مورد نظر با استفاده از کیت RNX-PLUS(Cinagen, Tehran) جداسازی شد سپس cDNA آن با استفاده از نسخه‌برداری معکوس توسط پرایمر oligo(dT) و کیت سنتز cDNA(Fermentas) ساخته شد.

درادامه، واکنش PCR توسط کیت PCR(Fermentas) و پرایمرهای طراحی‌شده (طبق جدول ۱) در ۳۵ سیکل انجام شد. درپایان، محصول PCR درون چاهک‌های ژل ۱/۷ درصد آگارز ریخته شد و اعمال ولتاژ صورت گرفت. میزان بیان کمّی ژن‌ها در مقایسه با ژن مرجع توسط نرم‌افزار UV Band Map صورت گرفت.

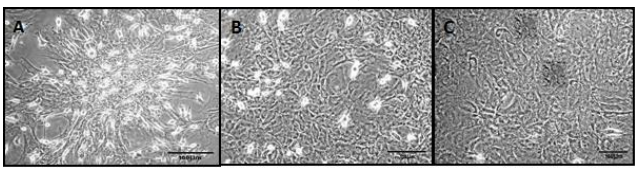
جدول۱: توالی پرایمرهای استفاده‌شده در آنالیز RT-PCR

	Official Name (gene)	Also known as (gene)	mRNA accession number	Primers			RNA	DNA
1	Ibsp	Bsp	NM_012587.2	F	GTACCGGCCACGCTACTTTC	20	110	-
				R	TATCGCCATCTCCATTTTCTTCC	23		
2	Bglap	Bgp Osteocalcin(Protein)	NM_013414.1	F	AGTCTGACAAAGCCTTCATGTCC	23	170	-
				R	AATGTGGTCCGCTAGCTCGT	20		
3	Dspp	Dsp	NM_012790.2	F	AGCCAGGCAGAAGCATGTC	19	138	856
				R	ATGGTGTCCGTTGCTGTCTT	20		
4	Alpl	alkaline phosphatase(Protein)	NM_013059.1	F	ACAACCTGACTGACCCTTCC	20	105	-
				R	CAATCCTGCCTCCTTCCACT	20		
5	Gapdh		NM_017008.4	F	AGTATGACTCTACCCACGGCAA	22	159	159
				R	CGCCAGTAGACTCCACGACA	20		
				R	CGCCAGTAGACTCCACGACA	20		

آنالیز آماری: مقادیر ذکرشده در مقاله به‌صورت میانگین± انحراف‌معیار می‌باشند. محاسبهٔ آماری به‌وسیلهٔ آنالیزهای Student's t test و ANOVA انجام شد و تفاوت معنی‌دار به‌صورت$p< ۰/۰۵$ تعریف شد.

یافته‌ها

خصوصیات BMSCs کشت‌شده: سلول‌ها در کشت اولیه توانایی تشکیل کلونی را نشان دادند و بر روی کلونی‌ها سلول‌های خونی[12] قابل تشخیص بودند. ازنظر مورفولوژی، اکثریت سلول‌ها دوکی‌شکل بودند ولی دربین آن‌ها سلول‌های چندوجهی نیز قابل تشخیص بود. سلول‌ها در پاساژ ۲-۳ عاری از سلول‌های خونی و خالص می‌شدند. درطول مراحل تحقیق از سلول‌های پاساژ ۲-۳ برای انجام آنالیزها استفاده شد(شکل ۱).



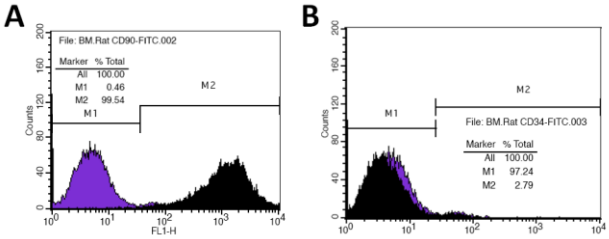
شکل۱: کشت اولیه(A)، پاساژ یک(B) و پاساژ دو(C)سلول‌های مغز استخوان رت

[9]Dimethyl sulfoxide
[10]In vitro odontogenic differentiation
[11]glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
[12]Hematopoietic cells

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-03]

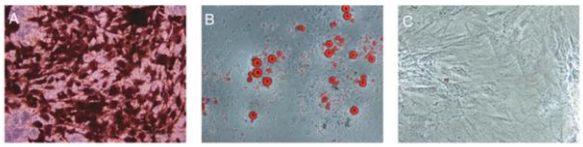
تعیین ماهیت سلول‌های جداشده

فنوتیپ BMSCs: سلول‌ها براساس ویژگی چسبندگی‌شان از مغز استخوان جدا شدند و به‌وسیلهٔ آنالیز فلوسایتومتری برای مارکر سطحی ویژهٔ سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشخص شدند. نتایج نشان داد که اکثریت BMSCs در پاساژ دوم، مارکر CD90، مارکر سلولهای بنیادی مزانشیمی، بیان می‌کنند (۹۹/۵۴، شکل A.۲). در مقابل اکثریت سلولها، از نظر بیان مارکر CD34، مارکر سلولهای خونی، منفی بودند (۲/۷۹، شکل ۲. B).



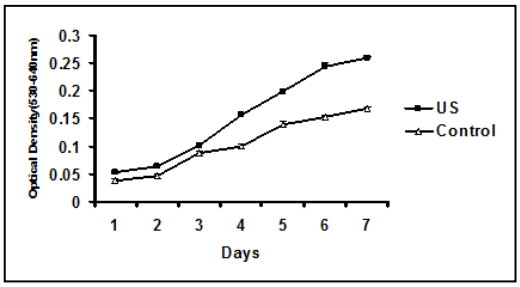
شکل۲: فنوتیپ BMSCs جداشده از مغز استخوان رت به‌وسیلهٔ فلوسیتومتری. A) بیان مارکر سطحیCD90، B) بیان مارکر سطحی CD34.

پتانسیل تمایز: BMSCs در پاساژ دوم ازنظر پتانسیل تمایز استئوژنیک و آدیپوژنیک مورد بررسی قرار گرفتند. بعداز القاء استئوژنیک، BMSCs شروع به ترشح ماتریکس معدنی کردند که توسط Alizarin Red به‌طور مثبت رنگ شدند همچنین به سلول‌های آدیپوسیت تمایز یافتند و سپس قطرات چربی آن‌ها توسط Oil Red رنگ شدند(شکل ۳).



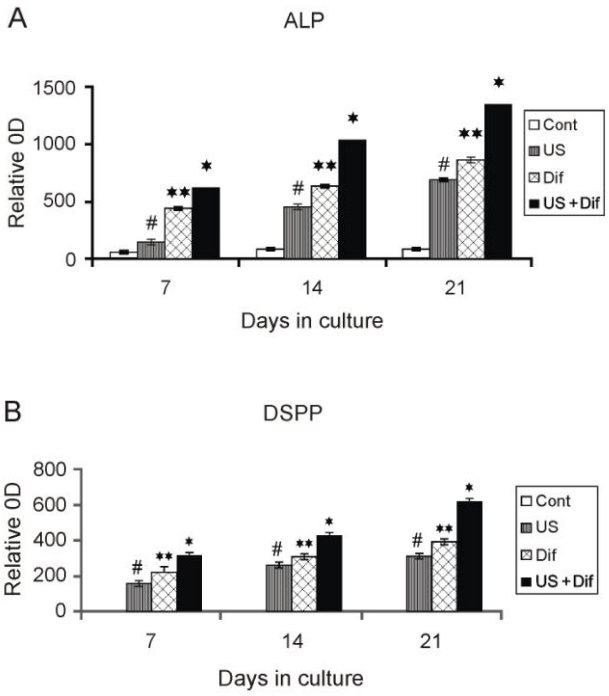
شکل۳: پتانسیل تمایز BMSCs. تمایز استئوژنیک با Alizarin Red (A)، تمایز آدیپوژنیک با Oil Red (B)و کنترل (C). بزرگنمایی × ۲۰.

توان زیستی BMSCs بعد از تابش فراصوت: نتایج تست MTT نشان داد که میزان جذب نوری[۱۳](توان زیستی)سلول‌هایی‌که درمعرض تابش فراصوت قرار گرفتند، درمقایسهٔ با سلول‌هایی‌که تابش ندیده‌اند، به‌طور معنی‌داری بالاتر است(p< ۰/۰۵)،(شکل۴).



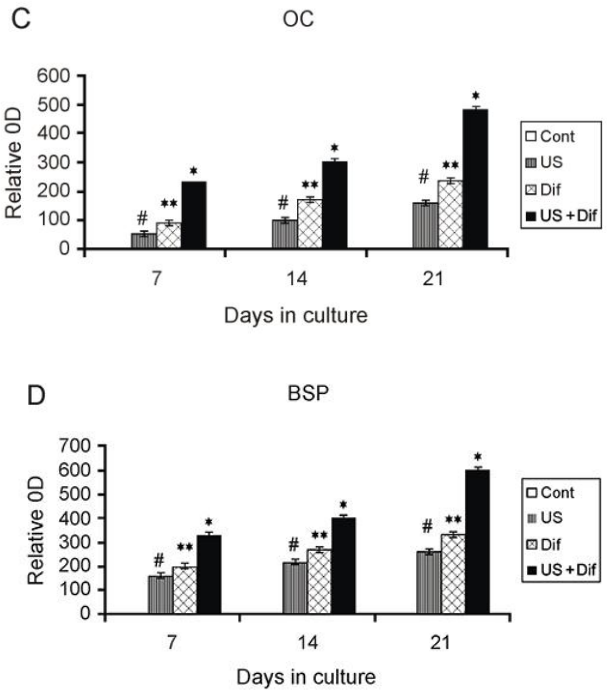
شکل۴: توان زیستی BMSCs کشت‌داده‌شده در معرض تابش فراصوت و بدون فراصوت (کنترل).

RT-PCR نیمه‌کمّی: نتایج نشان داد که بیان ژن‌های ادونتوژنیک (ALP, OC, BSP, DSPP) در گروهی که سلول‌ها هم در معرض تابش قرار داشتند و هم تحت تیمار محیط ادونتوژنیک بودند، (US +Diff)، نسبت به گروه‌های US و Diff به‌طور معنی‌داری بالاتر بود(p< ۰/۰۵). درحالی‌که در گروه کنترل به‌استثناء ژنALP، بیانی مشاهده نشد(شکل ۵).



[13]Optical density

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-03]



شکل۵: تأثیر امواج فراصوت بر میزان بیان ژن‌های ادونتوژنیک. بیان mRNA برای A) آلکالین فسفاتاز، B) دنتین سیالوفسفوپروتئین، C) استئوکالسین و D) بون‌سیالوپروتئین. *p< ۰/۰۵: برای گروه US+Diff درمقابل سایر گروه‌ها،**P<۰/۰۱: برای گروه Diff در برابر گروه US و Cont، #p< ۰/۰۵: برای گروه US در مقابل گروه Cont.

بحث

این مطالعه بر این اساس طراحی شد که آیا امواج فراصوت با شدت پایین که به‌طور معمول برای برداشتن تاج دندانی در دندان‌پزشکی، در بهبود شکستگی‌های استخوانی و همچنین در القاء تمایز استئوژنیک مورد استفاده قرار می‌گیرد، می‌تواند در ایجاد ادونتوبلاست‌های سلول دندانی که مسئول تشکیل و ترمیم عاج دندان هستند[۱۳] نیز مؤثر واقع شود. درسال‌های اخیر مطالعاتی در زمینهٔ تأثیر بیولوژی فراصوت بر بافت دندان درحال بررسی است و اینکه آیا فراصوت می‌تواند به‌عنوان یک ابزار درمانی برای ترمیم دندان استفاده شود[۱۶-۱۴]. مکانیسم‌های مؤثر در ایجاد اثرهای بیولوژیکی فراصوت هنوز به‌طور کامل شناخته نشده است ولی تصور می‌شود که این تأثیرات بیومکانیکی غیر حرارتی[14] فراصوت است که می‌تواند برروی سلول‌های مختلف مؤثر باشد[۱۵].

در مطالعهٔ حاضر، ما نشان دادیم که تابش فراصوت می‌تواند تکثیر و تمایز ادونتوژنیک را در BMSCs القاء کند. سلول‌های تمایزیافته توانستند ژن‌هایALP, OC, BSP,DSPP را بیان کنند(شکل۴و۵). آنزیم آلکالین‌فسفاتاز که عامل استر[15] متصل به ترکیبات فسفات ارگانیک را در شرایط قلیایی هیدرولیز می‌کند، نقش مهمی را در کلسیفیه‌شدن استخوان بازی می‌کند. ما یافتیم که فعالیت ALP درحضور و فقدان امواج فراصوت و محیط تمایز(کنترل) به‌تدریج افزایش می‌یابد ولی به‌هرحال سطح فعالیت آن در گروه US+Diff به‌طور معنی‌داری نسبت به دو گروه دیگر و کنترل بالاتر بود که این پیشنهاد می‌کند تحریک امواج فراصوت پیوسته به‌طور روزانه ممکن است با افزایش فعالیت ALP سبب افزایش معدنی‌شدن شود. مطالعات قبلی که تأثیر امواج را برروی سلول‌های ادونتوبلاست بررسی کردند، نشان دادند که این امواج می‌توانند اثر مشخصی بر تکثیر، توان زیستی و بیان ژنی آن‌ها داشته باشند[۱۴و۱۵]. تحقیقات نشان دادند که فراصوت با شدت پایین با افزایش مقدار کلسیم درون‌سلولی اثر مستقیم خود را بر فرآیندهای فیزیولوژیک سلول خواهد گذاشت. اثر ویژهٔ افزایش کلسیم درون سلولی، راه‌اندازی مسیرهای سیگنالی بیان ژنی است[۱۷]. در این تحقیق با توجه به حذف اثر حرارتی فراصوت، سعی در بررسی اثر خالص موج فراصوت بر سلول‌ها بوده است. در مطالعات قبلی نشان داده شده است که فراصوت توانایی برانگیزش مسیرهای تمایزی به استخوان را دارا می‌باشد[۱۸و۱۹]. بنابراین این مطالعه برای اولین‌بار گزارش می‌کند که امواج فراصوت پیوسته با شدت پایین می‌توانند سبب تکثیر و تمایز ادونتوژنیک سلول‌های بنیادی مزانشیمی و ترشح ماتریکس خارج سلولی و معدنی‌شدن عاج دندان[16] شوند.

[14] Nonthermal

[15] Ester
[16] Dentin

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-03]

References

1. Mimeault M, Concise review: recent advances on the significance of stem cells in tissue regeneration and cancer therapies. Stem Cells, 2006. 24(11): p. 2319-45.
2. Iohara K, Ito M, Ishikawa M, Nakasima A, Akamine A, Dentin regeneration by dental pulp stem cell therapy with recombinant human bone morphogenetic protein 2. J Dent Res, 2004. 83(8): p. 590-5.
3. Rezwan K, Blaker JJ, Boccaccini AR, Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering. Biomaterials, 2006. 27(18): p. 3413-31.
4. Gronthos, S., Akintoye, Wang, C.Y. and Shi, S, Bone marrow stromal stem cells for tissue engineering. Periodontol 2000, 2006. 41: p. 188-195.
5. Bolander ME. Regulation of fracture repair by growth factors. Proc Soc Exp Biol Med, 1992. 200(2): p. 165-70.
6. Duarte LR. The stimulation of bone growth by ultrasound. Arch Orthop Trauma Surg 1983. 101: p. 153–159.
7. Wang SJ, Bolander ME, Chao EY, Ilstrup DM, Greenleaf JF, Low intensity ultrasound treatment increases strength in a rat femoral fracture model. J Orthop Res, 1994. 12(1): p. 40-7.
8. Harvey W, Pond JB, Grahame R, The stimulation of protein synthesis in human fibroblasts by therapeutic ultrasound. Rheumatol Rehabil, 1975. 14(4): p. 237.
9. Webster DF, Dyson M, Harvey W, The role of cavitation in the in vitro stimulation of protein synthesis in human fibroblasts by ultrasound. Ultrasound Med Bi, 1978. 4(4): p. 343-51.
10. Nishikori T, Ochi M, Uchio Y, Maniwa S, Kataoka H, Kawasaki K, Katsube K, Kuriwaka M. Effects of low-intensity pulsed ultrasound on proliferation and chondroitin sulfate synthesis of cultured chondrocytes embedded in Atelocollagen gel. J. Biomed. Mater. Res, 2002. 59(2): p. 201-206.
11. Parvizi J, Lewallen DG, Greenleaf JF, Bolander ME, Low-intensity ultrasound stimulates proteoglycan synthesis in rat chondrocytes by increasing aggrecan gene expression. J Orthop Res, 1999. 17(4): p. 488-94.
12. Johns, L., Nonthermal effects of therapeutic ultrasound: the frequency resonance hypothesis. J Athl Train, 2002. 37(3): p. 293-9.
13. Smith AJ, Induction and regulation of crown dentinogenesis: embryonic events as a template for dental tissue repair? Crit Rev Oral Biol Med, 2001. 12(5): p. 425-37.
14. Scheven BA, Cooper PR, Lea SC, Walmsley AD, Smith AJ, Short-term in vitro effects of low frequency ultrasound on odontoblast-like cells. Ultrasound Med Biol, 2007. 33(9): p. 1475-82.
15. Man J, Cooper PR, Scheven BA, Low-intensity low-frequency ultrasound promotes proliferation and differentiation of odontoblast-like cells. J Endod, 2012. 38(5): p. 608-13.
16. Scheven BA, Millard JL, Cooper PR, Lea SC, Walmsley AD, Smith AJ, VEGF and odontoblast-like cells: stimulation by low frequency ultrasound. Arch Oral Biol, 2009. 54(2): p. 185-91.
17. Harle J, Olsen I, Salih V, Effects of ultrasound on transforming growth factor-beta genes in bone cells. Eur Cell Mater, 2005. 10: p. 70-76.
18. Ren L,., Song J, Wang Z, Deng F, Li W, Involvement of p38 MAPK pathway in low intensity pulsed ultrasound induced osteogenic differentiation of human periodontal ligament cells. Ultrasonics, 2013. 53(3): p. 686-90.
19. Angle SR, Sumner DR, Virdi AS, Osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells by various intensities of low-intensity pulsed ultrasound. Ultrasonics, 2011. 51(3): p. 281-8.

[Downloaded from icml.ir on 2026-11-03]