

## Dental Pulpa Mezenkimal Kök Hücre Osteojenik Farklılaşmasında Sempatik Sinir Sisteminin Rolü Var Mıdır?

Ayşegül Mendi<sup>1</sup> Esra Gündüzer<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Emek, Ankara

<sup>2</sup>Gazi Üniversitesi Yaşam Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi, Gölbaşı, Ankara

\*Corresponding Author

E-mail: aysegulmendi@gmail.com

Geliş Tarihi: 01.Temmuz.2018

Kabul Tarihi: 05.Aralık.2018

### Özet

Halk arasında sinir hastalıkları ve yara iyileşmesi için kullanılan *H. perforatum* etken maddesi olan hiperisinin sinir hücrelerinde adrenerjik reseptör  $\beta 1/2$  reseptör alt tiplerine bağlanmayı inhibe ettiği bildirilmiştir.  $\beta 1$ -AR'lerin inhibe olması genel olarak antidepresan etkinin biyolojik işaretidir.  $\beta$ -blokerların azalmış kemik yoğunluğunu arttırmada etkili olabileceği de gösterilmektedir. Buradan yola çıkarak dental pulpa kaynaklı mezenkimal kök hücre (DP-MKH) ile birlikte kültür edildiğinde *H. perforatum* etanol ekstresinin  $\beta$ -bloker etki gösterip göstermeyeceği ve osteojenik farklılaşmadaki rolü araştırılmıştır. Osteojenik farklılaşma 21 gün süre boyunca takip edilmiş ve von Kossa boyaması ile kalsiyum granüllerinin hücre içinde ne zaman oluştuğu gösterilmiştir. Adrenerjik reseptör ekspresyonu ve osteojenik işaretler qPCR ile tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** dental pulpa mezenkimal kök hücre, *H. perforatum*., adrenerjik reseptör, osteojenik farklılaşma, deksametazon

## Is there a role for sympathetic nervous system in dental pulp mesenchymal stem cell osteogenic differentiation?

### Abstract

*H. perforatum*, used as antidepressant and wound healing agent by public, is reported as inhibited the adrenergic receptor  $\beta 1/2$  expression in neuronal cells. Reduced adrenergic receptor  $\beta 1/2$  expression increases the bone density. From this point of view we investigated the effect of *H. perforatum* extract on dental pulp mesenchymal stem cells (DP-MSCs) osteogenic differentiation. Osteogenic differentiation was conducted for 21 days and calcium granules were determined by von Kossa staining. Expression of osteogenic markers and adrenergic receptor were exhibited by qPCR

**Keywords:** dental pulp mesenchymal stem cell, *H. perforatum*, adrenergic receptor, osteogenic differentiation, dexamethasone

### GİRİŞ

Mezenkimal kök hücreler (MKH), kendi kendini yenileyebilen ve *in vitro* ve *in vivo* osteosit, adiposit ve kondrosit gibi mezodermal soylara farklılaşabilen multipotent erişkin kök hücrelerdir [1]. İnsan MKH'leri ilk olarak kemik iliğinden izole edilmiş olmasına rağmen, nöral krest kaynaklı dental pulpa gibi diğer pek çok erişkin dokulardan da elde edilebilmektedir [2]. Farklılaşabilme ve kolay erişilebilme özelliklerinin dışında MKH'ler hasarlı dokuya yönelebilmeye ve immünsüpresif moleküller ve gelişme faktörleri salgılayarak immün homeostasisi düzenlemekte ve doku onarımını kolaylaştırmaktadır [3]. Bunun doğal bir sonucu olarak MKH'ler rejeneratif tıpta özellikle kemik rejenerasyonunda önemli role sahiptir.

Kemik üzerinde anabolik etkisi olan yeni ajanlara olan ihtiyaç Diş Hekimliği de dahil olmak üzere iskelet gelişimi ve onarımı ile ilgilenen tüm bilim dallarında mevcuttur. Şu andaki tedavi seçenekleri sinyal yollarını (teriparatit, denosumab ve selektif östrojen reseptör modülatörleri) hedef almakta ve/veya osteoklastların apoptozisini uyaran ilaç içeren çevrelerinin (bifosfanatlar) oluşturulmasını içermektedir [4-6]. Oysa, kemik oluşumunu kontrol eden MKH ve/veya osteoblastlardaki mekanizmaların anlaşılması periodontitis ve/veya osteoporosis gibi kemik yıkımına sebep olan hastalıklara ve iyileşmeyen kırıklara yeni yaklaşımların geliştirilmesi için önemlidir.

Pek çok farklı çalışmada sempatik inervasyonun kemik rezorpsiyonu ve osteoblast aktivitesini düzenlediği bildirilmiştir [7,8]. Otonom sinir sisteminin bir parçası olarak, sempatik sinir sistemi beyni periferik bağlayan ana yollardan biri olup organizmada homeostatik mekanizmaların ilerlemesi ya da gerilemesinden sorumludur [9]. Otonom sinir fibrilleri periosteum, endosteum, ve kortikal kemikte tanımlanmıştır [10, 11]. Osteoblastlar bu fibriller için fonksiyonel reseptörlere sahiptir.  $\beta$  adrenerjik reseptörler (AR) osteoblastlar tarafından ekspresyon edilmiş ve birçok *in vivo* ve *in vitro* çalışmada kemik fonksiyonu üzerinde doğrudan etkisi gösterilmiştir [12]. Periodontal doku otonom sinir sistemi tarafından özellikle sempatik sinir sistemi tarafından kontrol edilmekte ve bu sistemlerin mekanizmasındaki bir bozukluk kolaylıkla periodontal bozunmalara neden olabilmektedir. Pek çok çalışmada stresin sempatik sinir sistemi uyardığı ve böylece periodontitis hassasiyetini arttırdığı öngörülmüştür [7, 13-16]. Çalışmalarda,  $\beta$ -AR bloklayan ajanların ( $\beta$ -bloker), farelerde trabeküler kemik hacmini arttırdığı gösterilmiştir [17].  $\beta$ -blokerların kemik metabolizması üzerindeki etkilerini göstermek için insanlarda yapılan klinik bir çalışmada yapılan çalışmada,  $\beta$ -bloker grubunda kemik rezorpsiyon markerlarının anlamlı derecede düştüğü gösterilmiştir [18]. Bu sonuçlar  $\beta$ -blokerların azalmış kemik yoğunluğunu arttırmada etkili olabileceğini göstermektedir.

*H. perforatum*, MÖ 1540 zamanından bu yana, zihinsel bozuklukları tedavi etmede kullanılmaktadır. Bitkinin çeşitli ülkelerde halk arasında baş ağrısı, menopozal nevroz, zihinsel hastalıklar, hipokondriyazis, hidrofobi, aşırı duyarlılık, nevralsi, koksalji, tetani, paraliz, spatik paraliz, çene kilitlenmesi, boyun tutulması, omurilik hastalıkları, spinal konvülziyon, spinal irritasyon gibi bazı nörolojik rahatsızlıklarda da kullanıldığı rapor edilmiştir [19]. *H. perforatum*'un çiçekli toprak üstü kısımlarından hazırlanan ekstrelerin kemirgenler üzerinde antidepresan etkileri rapor edilmiştir [20]. Söz konusu ekstrelerin antidepresan etkileri klinik araştırmalar ile de ortaya konmuştur [21]. İçeriğindeki hiperforinin, monoaminlerin geri alımını önlediği ve sinaptik aralıkta monamin miktarlarını yükselttiği kabul edilmekle birlikte, seçici serotonin geri-alım inhibitörleri (SSRI) gibi nörotransmitter taşıyıcı protein bağlanma yöreleri için kompetitif bir yarışmaya girmedeği, hücre zarında Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> değiş-tokuş mekanizmasının aktivasyonu ile hücre hücre içi Na<sup>+</sup> miktarını artırıp, hücre dışı ve hücre içi arasındaki Na<sup>+</sup> iyonu ile beraber hücre içine taşınımını (kotransport) önlediği ileri sürülmüştür. Hiperforinin, Na<sup>+</sup> gradiyentinin azaltan aynı ortak mekanizma ile monoaminlerin yanı sıra gama aminobütirik asit (GABA) ve glutamat gibi nörotransmitterlerin de geri alımlarını inhibe ettiği gösterilmiştir [22]. Diğer yandan, hiperisin adrenerjik reseptör  $\beta$ 1/2 reseptör alt tiplerine bağlanmayı inhibe etmiştir.  $\beta$ 1 adrenerjik reseptörlerin inhibe olması genel olarak antidepresan etkinin biyolojik işaretidir [23-26]. Bu farmakolojik etkiden yola çıkarak bu çalışmada *H. perforatum*'un  $\beta$ -AR'leri baskılayıcı özelliğinin DP-MKH kemik farklılaşmasında uyarıcı etki gösterip göstermeyeceği ve bu mekanizma ile kemik farklılaşmasının artıp artmayacağı araştırılmıştır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### *H. perforatum* etanol ekstresinin elde edilmesi:

*H. perforatum* bitkisi etanol ekstresi Dr. Yılmaz Klinik (Kayseri) tarafından elde edilmiştir.

### DP-MKH izolasyonu ve kültür edilmesi:

Gronthos ve ark (2000) yöntemine göre gömülü 20 yaş dişlerinden kimyasal ve enzimatik parçalama yöntemi ile izole edilmiştir [2]. Pittenger ve ark (1999) yöntemine göre kültür ve farklılaşma çalışmaları gerçekleştirilmiştir [27]

### İmmünofenotipik analizler

Akım sitometri ile (FACSARIA, BD, USA) antikor paneli CD29-FITC (ebioscience USA), CD73-PE (BD, USA), CD90-PE (BD, USA) ve CD44-PE (ebioscience, USA) MKH işaretleri olarak araştırılırken, CD45-FITC (BD, USA), CD14-PE (BD, USA), ve CD34-FITC (BD USA) hematopoietik yüzey işaretleri olarak kullanılmıştır.

### *H. perforatum* bitkisi etanol ekstresinin DP-MKH üzerindeki etkin konsantrasyonunun belirlenmesi:

Gerçekleştirdiğimiz önceki çalışmada xCELLigence analiz sistemi ile proliferasyonu, ikiye katlanma süresini kısaltan en etkin konsantrasyon belirlenmiştir [28].

### *H. perforatum* bitkisi etanol ekstresi ile DP-MKH osteojenik farklılaşma belirlenmesi

Altı kuyucuklu (doku kültür kaplarında %70 oranında yayılım gösteren DP-MKH'ler Pittenger ve ark.ın (1999) metoduna göre osteojenik farklılaşmaya yönlendirilmiştir. Farklılaşma vasadı DMEM-LG içerisinde %10 fetal sıgır serumu (Sigma), %1 Penisilin/Streptomisin (Sigma), 10-8M deksametazon, 50µg/mL askorbik asit, 10-2M beta-gliserofosfattan oluşmaktadır. Farklılaşma vasadına 10µg/

mL *H. perforatum* eklenmiş gruplar ve kontrol grubu olarak bitki ekstresi içermeyen hücrelerde farklılaşma 21 gün süresince her 3 günde bir kültür vasadının değiştirilmesi ile devam ettirilmiş ve 21. günde von Kossa boyamaları gerçekleştirilmiştir. Farklılaşan hücrelerde kalsiyum birikimi von Kossa Boyama Kiti ile (Abcam) gösterilmiştir. Protokolde üretici firmanın yönergeleri takip edilmiştir. Kısaca, %5 gümüş nitrat çözeltisinde UV ışığı altında 30-60 dk inkübe edilen hücreler, süre sonunda distile su ile yıkamayı takiben, sodyumtiyosülfat çözeltisinde (%5) 2-3 dk inkübe edilmiştir. 2 defa 2 dk boyunca distile suda yıkandıktan sonra, taze saf alkolde dehidre edildikten sonra görüntülerde yoğun kalsiyum alanları siyah, dağınık haldeki kalsiyum gri, hücre çekirdeği kırmızı ve sitoplazma pembe renkli boyandığı izlenmiştir

### *H. perforatum* ile osteoblastik farklılaşan DP-MKH'lerde qPCR çalışmaları:

*H. perforatum* uygulanmış hücreler ile kontrol örneklerinden total RNA izolasyonu miRNeasy (Qiagen, USA) kit prosedürüne göre gerçekleştirilmiştir. 40µl su eklenerek çözülen RNA örnekleri kullanılabilece kadar -80 oC'de saklanmıştır. RNA örnekleri, Take 3 plate (BioTek Instruments, USA) ile EPOCH spektrofotometre cihazında spektrofotometrik olarak ölçülmüş, Gene5 version 3.0 programı kullanılarak A260/280 değerleri ile saflığı ve ng/µL değerleri ile de miktarları belirlenmiştir. Ayrıca RNA bütünlüğü %1,2 agaroz jel ile de kontrol edilmiştir. RNase free DNase (1u/µl) enzimi (Promega, USA) kullanılarak izole edilen tüm RNA örneklerinde olması muhtemel DNA kontaminasyonu minimum düzeye getirilmiştir. DNase enzimi ile muamele edilen RNA örneklerinden cDNA sentezi RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific, USA) prosedürü uygulanarak GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems, USA) cihazında gerçekleştirilmiştir. Real Time PCR reaksiyonları Rotorgene Q (Qiagen, USA) cihazında, üç tekrarlı olacak şekilde genlere özgü PrimeTime® Mini qPCR Assay (IDT, USA) primer-prob setleri ve RealQ Plus 2x Master Mix for probe, Low ROX (Ampliqon, Danimarka) kullanılarak, 95°C'de 15 dk, 95°C'de 15 sn ve 60 °C'de 60 sn 40 döngü olarak gerçekleştirilmiştir. GAPDH ve  $\beta$ -Actin (ACTB) housekeeping gen olarak kullanılmıştır. Çalışılan gen bölgeleri için tasarlanan primer ve prob dizileri Tablo 1'de gösterilmektedir. ADRB1, ALPL, BGLAP, SPARC ve SP7 genlerine ait transkript profilleri kontrol profilleri, ACTB ve GAPDH genleri ile karşılaştırılmıştır. ACTB transkript profillerinin örneklerin tümünde daha stabil olduğu görüldüğünden normalizasyon için ACTB kullanılmıştır. Elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi Livak ve Schmittgen (2001)'in 2- $\Delta\Delta$ CT metoduna göre ve One Way ANOVA (Dunnett) ile yapılmıştır (Livak ve Schmittgen 2001). Verilerin ortalama, standart sapma, standart hata ve istatistiksel olarak anlamlılık dereceleri SPSS version 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiş olup, P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

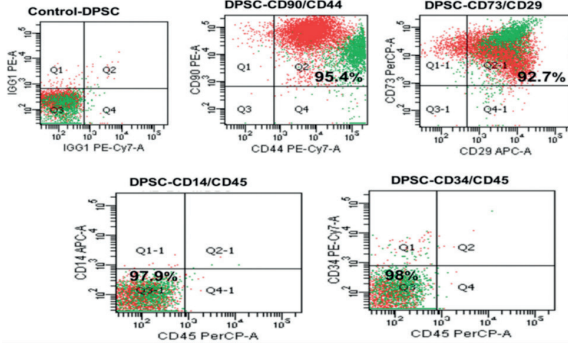
## BULGULAR VE TARTIŞMA

### *H. perforatum* etanol ekstresinin elde edilmesi:

ISO 10002:2004, ISO 9001:2015; ISO 22000:2005 kalite sertifikalarına sahip Dr. Yılmaz Klinik'ten *H. perforatum* bitkilerinin etanol ekstresi elde edilmiştir. Elde edilen sarı kantaron bitkisi etanol ekstresinin % toplam hiperisin miktarı %0,2 olarak belirlenmiştir.

### DP-MKH izolasyonu ve kültür edilmesi:

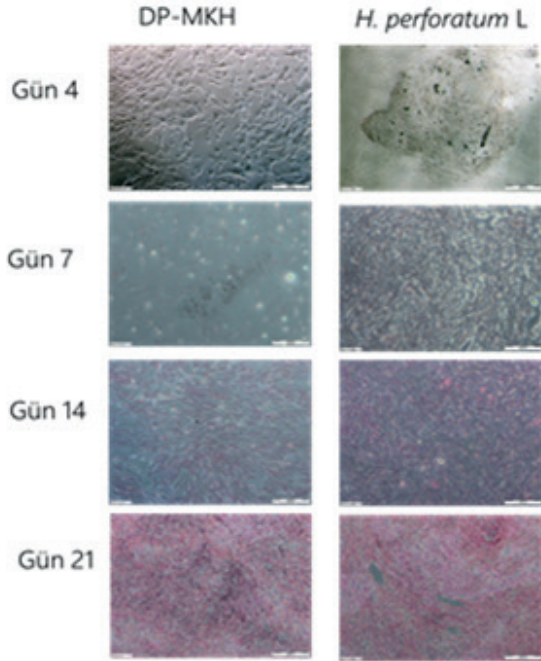
MKH işaretleri varlığı (%95<) ve hematopoietik hücre işaret yokluğu (>%95) belirlenmiştir (Şekil 1).



Şekil 1. DP-MKH yüzey işaretleri

### *H. perforatum* bitkisi etanol ekstresi ile DP-MKH osteojenik farklılaşma belirlenmesi:

Resim 1'de 4, 7, 14 ve 21. günlerde elde edilmiş osteojenik farklılaşma boyama görüntüleri sunulmaktadır. *H. perforatum* ile kültür edilmiş örneklerde kalsiyum granül birikiminin 4. Günde başladığı izlenmiştir. Ayrıca hücre proliferasyonunun 7. Günden itibaren *H. perforatum* ile kültür edilen hücrelerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

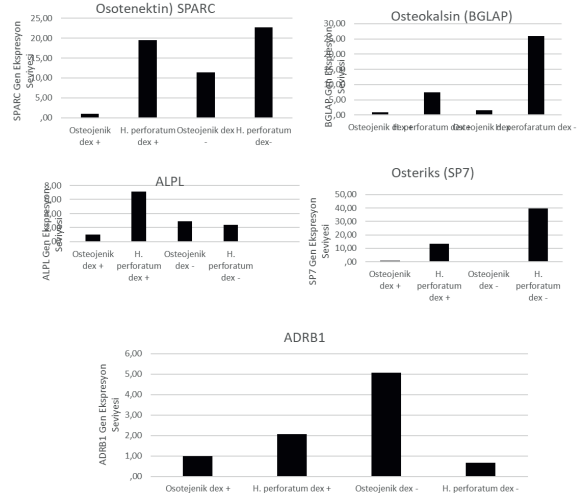


### *H. perforatum* ile osteoblastik farklılaşan DP-MKH'lerde qPCR çalışmaları:

Osteoblast erken farklılaşma işareti osteonektin (SPARC) ve geç farklılaşma işaretleri osteokalsin (BGLAP), alkalın fosfataz (ALP), Osoterix (SP7) ve sempatik sinir sistemi reseptörlerinden  $\beta$ -adrenerjik reseptör-1 (ADRB1)

transkript prfilleri Şekil 3'te gösterilmektedir.

*H. perforatum*'un deksametazon yokluğunda dahi gen transkripsiyonunu uyardığı belirlenmiştir. Hipotezimizle ilgili olarak ADRB1 transkripsiyonunun *H. perforatum* varlığında baskılandığı izlenmiştir.



Şekil 3. Gen transkripsiyon profilleri

## SONUÇ VE ÖNERİLER

*H. perforatum* ekstraktının  $\beta$ -AR regülasyonunu negatif yönde etkilediği görülmüş ve kemik farklılaşma işaretlerini uyardığını izlendiği bu ön çalışma, inflamasyonlu ortamda  $\alpha$  adrenerjik reseptör 2 ve 3 transkripsiyonunun araştırılması ile devam edecektir.

### Teşekkür

Bu makalede konu edilen çalışmanın gerçekleşmesinde destek sağlayan Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine ve TÜBİTAK SBAG Birimine teşekkür ederiz (Proje No: 03/2017-21 ve TÜBİTAK SBAG 216S318)

## KAYNAKLAR

- [1] Caplan AI. 2007. Adult mesenchymal stem cells for tissue engineering versus regenerative medicine. *Journal of Cell Physiology*, 213:341–347.
- [2] Gronthos S, Mankani M, Brahmi J, Robey PG, Shi S. 2000. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proceedings in Natural Academy Sciences*, 97:13625–13630.
- [3] Ma, S., Xie, N., Li, W., Yuan, B., Shi, Y., Wang, Y. 2014. "Immunobiology of mesenchymal stem cells", *Cell Death Differ*, 21(2), 216-225.
- [4] Silverman SL, Christiansen C, Genant HK, Vukicevic S, Zanchetta JR, de Villiers TJ, Constantine GD, Chines AA. 2008. Efficacy of bisphosphonates in reducing new vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis: results from a 3-year, randomized, placebo-, and active-controlled clinical trial. *Journal of Bone and Mineral Research*, 23:1923–1934.
- [5] Canalis E. 2010. Update in new anabolic therapies for osteoporosis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 95:1496–1504.
- [6] Bellido T, Plotkin LI. 2011. Novel actions of bisphosphonates in bone: preservation of osteoblast and osteocyte viability. *Bone*, 49:50–55.
- [7] Singh IJ, Herskovits MS, Chiego Jr. DJ, Klein RM.

1982. Modulation of osteoblastic activity by sensory and autonomic innervation of bone, *Progress in Clinical and Biological Research*, 101:535–551.

[8] Hayug, S.R., Heyeraas, K.J. 2006. Modulation of dental inflammation by the sympathetic nervous system”, *Journal of Dental Research*, 85(6), 488–495.

[9] Breivik T, Thrane PS, Murison R, Gjermo P. 1996. Emotional stress effects on immunity, gingivitis and periodontitis”, *European Journal of Oral Sciences*, 104: 327–334.

[10] Ladizesky MG, Cutrera RA, Boggio V, Mautalen C, Cardinali DP. 2000. Effect of unilateral superior cervical ganglionectomy on bone mineral content and density of rat’s mandible, *Journal of the Autonomic Nervous System*, 78: 113–116.

[11] Ladizesky M, Lama MA, Rolda’n EJ, Cutrera RA, Boggio V, Giglio MJ, Cardinali DP. 2003. Effect of unilateral superior cervical ganglionectomy on mandibular bone in rats. *Neuro Endocrinology Letters*, 24: 314–320.

[12] Moore, R.E., Smith, C.K., Bailey, C.S., Voelkel, E.F., Tashjian, A.H. Jr. 1993. “Characterization of beta-adrenergic receptors on rat and human osteoblast-like cells and demonstration that beta-receptor agonists can stimulate bone resorption in organ culture”, *Bone and Mineral*, 23, 301–15.

[13] Hall NR, Goldstein AL. 1984. Endocrine regulation of host immunity. In: Fenichel RL, Chirogos MA, editors. *Immune modulation agents and their mechanisms*. New York: Marcel Dekker.

[14] Mantyh PW. 1991. Substance P and the inflammatory and immune response, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 632:263–271.

[15] Genco RJ, Ho AW, Grossi SG, Dunford RG, Tedesco LA. 1999. Relationship of stress, distress and inadequate coping behaviors to periodontal disease, *Journal of Periodontology*. 70:711–723.

[16] Bletsa A, Heyeraas KJ, Haug SR, Berggreen E. 2004. IL-1 alpha and TNF-alpha expression in rat periapical lesions and dental pulp after unilateral sympathectomy, *Neuroimmunomodulation*, 11:376–384.

[17] Pierroz DD, Bouxsein ML, Rizzoli R, Ferrari SL. 2006. Combined treatment with a beta-blocker and intermittent PTH improves bone and microarchitecture in ovariectomized mice, *Bone*, 39: 260–267.

[18] Reid IR, Lucas J, Wattie D, Horne A, Bolland M, Gamble GD, Grey AB. 2005. Effects of a beta-blocker on bone turnover in normal postmenopausal women: a randomized controlled trial, *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 90:5212–5216.

[19] Blumenthal M, Goldberg A, Brinckmann J. 2000. *St John’s wort, Herbal Medicine: Expanded Commission E Monographs*. 1st ed. Newton (Massachusetts): Integrative Medicine Communications, 359–366.

[20] Öztürk, Y., Aydın, S., Beis, R., Baser, K.H.C., Berberoglu, H. 1996. Effects of *Hypericum perforatum* L. and *Hypericum calycinum* L. extracts on the central nervous system in mice, *Phytomedicine*, 3:139–146.

[21] Vorbach EU, Arnoldt KH, Hübner WD. 1997. Efficacy and tolerability of St. John’s wort extract L. 160 versus imipramine in patients with severe depressive episodes according to ICD-10. *Pharmacopsychiatry*, 30: 81–85.

[22] Zanolì, P. 2004. Role of hyperforin in the pharmacological activities of St. John’s Wort, *CNS Drug Reviews*, 10: 203–218.

[23] Hancock AA, Marsh CL. 1985. Agonist interactions with betaadrenergic receptor following chronic administration of desipramine or atypical antidepressants, iprindole and mianserin, *Journal of Receptor Research*, 5:311–334.

[24] Honegger UE, Disler B, Wiesmann UN. 1986. Chronic exposure of human cells in culture to the tricyclic antidepressant desipramine reduces the number of beta-adrenoceptors, *Biochemistry and Pharmacology*, 35:1899–1902.

[25] Fishman PH, Finberg JPM. 1987. Effect of the tricyclic antidepressant desipramine on  $\beta$ -adrenergic receptors in cultured rat glioma C6 cells, *Journal of Neurochemistry*, 49:282–289.

[26] Butterweck V, Nahrstedt A, Evans J, Hufeisen S, Rauser L, Savage J, Popadak B, Ernsberger P, Roth LB. 2002. In vitro receptor screening of pure constituents of St. John’s wort reveals novel interactions with a number of GPCRs, *Psychopharmacology*, 162,193–202.

[27] Pittinger B, Black DM, Mitlak BH, Knickerbocker RK, Nickelsen T, Genant HK, Christiansen C, Delmas PD, Zanchetta JR, Stakkestad J, Glüer CC, Krueger K, Cohen FJ, Eckert S, Ensrud KE, Avioli LV, Lips P, Cummings SR. 1999. Reduction of vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis treated with raloxifene: results from a 3-year randomized clinical trial: Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation (MORE) Investigators, *JAMA*, 282: 637–645.

[28] Mendi A, Gökçinar Yagci B, Sarac N, Kiziloglu M, Uğur A, Uçkan D, Yılmaz D. 2018. Niche differs the effects of *Hypericum perforatum* L. on the dental pulp- and bone marrow-derived mesenchymal stem cells proliferation, osteogenic differentiation, and inflammatory response. *Cells Tissues Organs*. doi: 10.1159/000491633