



## ARAŞTIRMA / RESEARCH

# Distraksiyon Osteogenesis Yöntemiyle Premaksillanın İleri Alınmasının ve TGFβ1'in Kemik Yapımı Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

## *Premaxillary Advancement by Using Distraction Osteogenesis and Evaluation the Effects of TGFβ1 on Bone Formation*



**Dr. Dilay ŞAHAN\***  
**Prof.Dr. Müfide DİNÇER\*\***  
**Prof.Dr. Gökhan**  
**ALPASLAN\*\*\***  
**Prof.Dr. Cansu**  
**ALPASLAN\*\*\***

\*Serbest Ortodontist, Kahramanmaraş, \*\*Gazi Üniv. Dişhek. Fak. Ortodonti A. D. Ankara, \*\*\* Gazi Üniv. Dişhek. Fak. Ağız, Diş, Çene Hast. Cer. A. D. Ankara / Private Practice, Kahramanmaraş, Turkey,  
 \*\*Dept of Orthodontics and  
 \*\*\*Dept. of Oral & Maxillofac. Surgery, Gazi Univ. Faculty of Dentistry, Ankara, Turkey

**Yazışma adresi:**  
**Corresponding Author:**  
 Prof. Dr. Müfide Dinçer  
 Gazi Üniversitesi Dişhekimliği  
 Fakültesi, Ortodonti AD, Emek  
 06510 Ankara/Turkey  
 Tel: +90 312 203 4273  
 E-posta: mufide@yahoo.com

### ÖZET

**Amaç:** Bu deneysel çalışmanın amacı, kemik-diş destekli distraktör kullanımı ile premaksillanın ileri alınmasının kafa yüz yapıları üzerine etkileri ile TGFβ1'in kemik iyileşmesi üzerine olan etkilerinin incelenmesidir. **Gereçler ve Yöntem:** Ondört adet tavşan 3 gruba ayrılarak 1.grup sadece distraksiyon osteogenesis uygulanan 7 tavşandan, 2.grup distraksiyon osteogenesis+ TGFβ1 uygulanan 5 tavşandan, kontrol grubu ise 2 tavşandan oluşturuldu. Anestezi ve distraktörün uyumlanmasını takiben palatal kemikte ve maksillanın lateral duvarında kortikotomi yapıldı. Cerrahiden 3 gün sonra, distraktör vidası 8 gün boyunca günde bir kere, 0,6 mm aktivasyon olacak şekilde açıldı. İkinci gruptaki tavşanlarda vida açılmaya başlandıktan 24 saat sonra kortikotomi yapılan bölgeye lokal olarak TGFβ1 uygulandı. Tavşanlar 12 gün sonra sakrifiye edilerek histolojik değerlendirme için örnekler alındı. **Bulgular:** Distraksiyon osteogenesis uygulanan grupta 3,79 mm; distraksiyon osteogenesis ile birlikte TGFβ1 uygulanan grupta 3.70 mm, premaksillanın ileri doğru hareket ettirildiği saptandı. **Sonuç:** Her iki grupta sefalometrik bulgular benzer bulunurken TGFβ1 uygulanan grupta histolojik olarak kemik iyileşmesinin daha iyi olduğu gözlemlendi (*Türk Ortodonti Dergisi 2010;23:212-225*)

**Anahtar Kelimeler:** Distraksiyon osteogenesis, premaksillanın ilerletilmesi, kemik-diş destekli distraktör, TGFβ1

**Gönderim Tarihi:** 01.06.2010  
**Kabul Tarihi:** 19.08.2010

### SUMMARY

**Aim:** The aim of this experimental study was to evaluate the advancement of premaxilla with a bone-tooth borne distractors using the landmarks on standard lateral cephalograms and the effects of TGFβ1 on bone healing. **Materials and Methods:** Fourteen rabbits were divided in 3 groups where first group (n=7) was treated with distraction osteogenesis, second group (n=5) was treated with distraction osteogenesis combined with external TGFβ1 application, and 2 rabbits were treated only with corticotomy as controls. Following anesthesia and adaptation of the individual distractors, corticotomy of palatal bone and lateral maxillary walls for distraction was made. The distraction has started 3 days following the surgical procedure, and the device was activated 0.6 mm each day for 8 days. External TGFβ1 application was made following 24 hours of the initial expansion in animals where distraction was combined with the application of growth factor. Animals were sacrificed after 12 days of retention period and specimens were collected for histological examination. **Results:** The amount of anterior movement of the premaxilla was found 3.79 mm for the distraction osteogenesis group and 3.7 mm for the group where external TGFβ1 application was made following distraction. ConcCleft palate, alveolar distraction, secondary alveolar bone grafting,ups, histological bone healing was much better in TGFβ1 treated group. (*Turkish J Orthod 2010;23:212-225*)

**Key Words:** Distraction osteogenesis, premaxillary advancement, bone-tooth borne distraction appliance, TGFβ1

**Date Submitted:** 01.06.2010  
**Date Accepted:** 19.08.2010



## GİRİŞ

Distraksiyon osteogenesis tekniği gerilme yoluyla yeni kemik oluşumunu sağlayan bir tedavi alternatifidir olup; son yıllarda ağız dışı veya ağız içi distraktör kullanılarak maksilla ileriye alınabilmektedir (1-4).

Maksiller yetersizlik olgularında üst diş kavsinde çapraşıklığa rastlanılmakta, özellikle kanin dişlerinin vestibülden sürdükleri gözlenmektedir. Bu olguların erken dönem ortodontik tedavisinde ağız dışı uygulamalarla birlikte üst çenede genişletme (5,6) yapılmasına rağmen özellikle kaninlerin sürmeleri için gerekli yer elde edilememektedir. Olgunun özelliğinden dolayı yer elde etmek için diş çekiminden kaçınılmaktadır. Tedavi için iskeletsel gelişimin tamamlanması beklenerek, kemik greftlerinin kullanıldığı cerrahi tekniklerle maksillanın ilerletilmesi gerçekleştirilmektedir. Ancak bu uygulamalarda kemik greftinde başarısızlıklar ve greftin alındığı bölgede komplikasyonlar bildirilmektedir (7,8).

Ortodontik tedavi veya cerrahi ile desteklenmiş ortodontik tedaviler sonrası relaps oldukça önemli bir problemdir. Büyüme faktörleri hem kemik tamir mekanizmasında hem de kemiğin normal yapısının korunmasında çok önemli görevleri olan moleküller olup (12); osteoblast proliferasyonu ve kemik formasyonunu arttırmaları yanında kemotaksis, mitoz, farklılaşma ve ekstraselüler matriks oluşumunda rol oynarlar (13). Platelletten zengin plazma (platelet-rich-plasma-PRP), rekombinant insan morfogenetik proteini-2 (recombinant human bone morphogenetic protein-2 -rhBMP2), (osteogenik protein 1 (osteogenic protein 1) gibi çeşitli büyüme faktörlerinin distraksiyon osteogenesis uygulamalarındaki terapötik etkileri hem deneysel hem de klinik çalışmalarda gösterilmiştir (14-17). Transformasyon büyüme faktörü-beta (Transforming Growth Faktör  $\beta$ ) (TGF- $\beta$ ) büyüme faktörlerinden biridir, memelilerde 3 izoformu bulunmaktadır. Büyümenin düzenlenmesinde ve gelişimde önemli rol oynamaktadır. Ayrıca pek çok hücrede hücre çoğalmasını, farklılaşmasını kontrol etmekte ve ekstraselüler matriks formasyonunda yer almaktadır (18). Ratlarda yapılan bir çalışmada TGF- $\beta$ 'nın lokal olarak uygulanması, hem implant çevresinde oluşan kemik miktarını hem de implant ile kemik bağlantısını arttırmıştır (19). Kırık iyileşmesi modelinde TGF- $\beta$ 1 lokal

## INTRODUCTION

Distraction osteogenesis is the technique of growing new bone by stretching the preexisting bone. In recent years, this technique which can be performed either with intraoral or extraoral distractors has become increasingly popular in the advancement of maxilla. (1-4).

Crowding of dental arch with the canines erupting in the vestibular position is evident in maxillary retrusion cases. Orthodontic and surgical treatments of these patients are challenging. Although maxilla is protruded and expanded (5,6) by extraoral appliances in early treatment of most cases, it is generally not possible to gain space for the canines. It is also known that extraction of teeth is contraindicated for these cases. Frequently treatment is delayed until the completion of skeletal growth. Surgical advancement of the maxilla is then carried out by the use of surgical techniques where bone grafts are used. However, bone graft donor side complications and bone graft failure have been reported (7,8).

Relapse following orthodontic or surgically supported orthodontic treatments is a major problem as well. Growth factors are important regulators of bone repair, and also involved in the normal maintenance of bone tissue (12). They stimulate osteoblast proliferation and bone formation as well as promoting chemotaxis, mitosis, differentiation and extracellular matrix formation (13). The therapeutic potential of various growth factors including platelet-rich-plasma (PRP), recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP2), osteogenic protein 1 in distraction osteogenesis has been evaluated both in experimental and clinical studies (14-17).

Three isoforms of transforming growth factor-beta exist in mammals and play critical role in growth regulation and development. They also stimulate the growth of some mesenchymal cells and enhance the formation of extracellular matrix (18). Local application of TGF- $\beta$  has resulted in enhanced peri-implant bone volume and bone-implant contact in the rat model (19). Local delivery of TGF- $\beta$ 1 has been found to enhance local bone ingrowth and gap and fracture healing (20,21).



olarak uygulandığında defekte daha hızlı kemik oluşumu sağlamaktadır (20,21).

Distraksiyon osteogenezisinin morfolojik, biomekanik, histolojik ve hücresel düzeyde özellikleri daha çok, insan büyüme ve gelişimine benzerlik gösteren büyük hayvan deneklerinde incelenmiştir. Moleküler düzeydeki değişiklikleri ratlarda inceleyen bir çalışmada, mandibular distraksiyon osteogenezisinde TGF- $\beta$ 1 uygulanmasının damar oluşumunu arttırıcı etki gösterdiği saptanmıştır. Bu bulgunun önemli klinik etkilere sahip olabileceği, bu sayede kemik rejenerasyonunu istenen bölgede arttırmaya yönelik terapötik etkisinden yararlanılabileceği üzerinde durulmuştur (22).

Literatür tarandığında, distraksiyon osteogenezisi ile premaksiller ilerletmeye ait oldukça az çalışma izlenmektedir. Bu çalışmaların çoğunda da diş destekli distraksiyon aygıtları kullanılmıştır (2,9,10,11).

Bu deneysel çalışmada, kemik-diş destekli aparey kullanılarak distraksiyon osteogenezis tekniği ile premaksillanın ilerletilmesinin dentofasiyal yapıdaki etkileri ile distraksiyon bölgesine lokal olarak uygulanan TGF $\beta$ 1'in hücresel cevap ve kemik iyileşmesi üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

#### GEREÇLER ve YÖNTEM

Bu araştırma ağırlıkları 2500-3000 gr.olan erişkin ve erkek 14 adet Yeni Zellanda tavşanını üzerinde yürütüldü. Tavşanlar yüksekliği 40 cm olan 2500 cm<sup>2</sup>'lik kafeslerde %40-50 lik nem ve 15-21°C ısıda barındırıldı. Çalışma planına göre 3 grup oluşturuldu. Birinci gruptaki 7 tavşana sadece distraksiyon osteogenezisi yapıldı, ikinci gruptaki 5 tavşana distraksiyon osteogenezis ile birlikte kortikotomi bölgesine lokal olarak transforme edici büyüme faktörü  $\beta$ 1 uygulandı. Kortikotominin hücresel etkilerini izlemek, 1. ve 2. grupta oluşacak hücresel cevabın ayırt edilmesini sağlamak için kontrol grubu olarak 3. grup, sadece kortikotomi yapılan 2 tavşandan oluşturuldu.

Gazi Üniversitesi Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alındı (6.11.2002 tarih ve 2-14150 no'lu rapor).

#### Model ve Lateral Sefalometrik Filmlerin Elde Edilmesi

Tavşan kadvrasından yararlanarak akrilik

The morphologic, biomechanical, histological, and ultrastructural aspects of distraction osteogenesis have extensively been studied mostly in large animal models that resemble to human growth characteristics. One study on molecular events governing these changes in a rat model has demonstrated that TGF- $\beta$ 1 production may be an important regulator of vasculogenesis during mandibular distraction osteogenesis. This information has been suggested to have significant clinical implications since it may enable targeted therapeutic manipulations designed to accelerate osseous regeneration (22).

A review of the literature shows that studies related to anterior maxillary advancement with distraction osteogenesis are rare; and also in many of these studies the tooth borne distraction devices are used (2,9,10,11).

This experimental study was designed to evaluate advancement of premaxilla by distraction osteogenesis using bone-tooth borne appliance and also to observe if there is a change in tissue response when TGF $\beta$ 1 is applied to distraction sites.

#### MATERIALS and METHODS

Fourteen adult male New Zealand rabbits weigh 2500-3000gr were used in this study and 3 groups were constituted. Rabbits were housed in cages sized 40 cm height, 2500cm<sup>2</sup> width, at 41-50 % moisture and 21°C heat. First group comprised of seven rabbits where only distraction osteogenesis was performed, second group comprised of five rabbits where TGF $\beta$ 1 was applied locally following distraction osteogenesis, and third group comprised of two animals serving as controls which were treated with corticotomy only. Ethical approval was obtained from Ethical Committee of Gazi University 2-14150 (6.11.2002).

#### The Constitution of the Models and the Lateral Cephalometric Radiographs

Acrylic resin trays were prepared using the cadavers of the rabbits. The impressions were taken with polyvinyl silicone impression material and poured into dental plaster.



ölçü kaşığı hazırlandı. Elastomerik ölçü materyali ile ölçüler alınarak sert alçıdan modeller elde edildi.

Tavşanlardan araştırma başı ve sonunda lateral sefalometrik filmler alındı. Filmlerin standardizasyonu için 18x24 cm boyutundaki film kaseti üzerine tavşan kafalarını yerleştirmek için akrildan düzenek hazırlandı. Filmler tavşanlar uyutularak çekildi.

#### Distraktörün Hazırlanması

6,4x3x13mm büyüklüğünde tek taraflı vida (Forestadent 134-1315) merkezi kortikotomi yapılacak bölgede olacak şekilde damağa yerleştirildi. Arka bölgede kemiğe yerleştirilecek pinlerin apareyle bağlantısını sağlayacak olan 2 adet loop 0,70 mm çapında paslanmaz çelik telden bükülerek vidanın arkasına lehimlendi; aynı şekilde önde 2 adet loop bükülerek bu loopların akril yardımıyla vida ile bağlantısı sağlandı (Şekil 1).

Apareyin akril kısmı önde yer alıp, üst kesici dişlerin vestibülünü saracak şekilde oluşturuldu (Şekil 2).

#### Cerrahi Teknik

Tavşanlara cerrahi uygulama öncesinde antibiyotik profilaksisi uygulandı. Cerrahi disiplin altında hazırlanan hayvanlara, 30 mg KetalarHCL (Ketamin, Eczacıbaşı) ve 4mg Xylazine (Rompun-Bayer) bulunan anestetik solüsyon intramusküler enjeksiyon yolu ile verildi. Cerrahi işlem öncesi distraktör denek-

Lateral cephalometric radiographs were taken at the initial and final stages. In order to standardize the radiographs, acrylic device was prepared for keeping the rabbit head in a proper position on the film cassette.

#### Construction of the Distractors

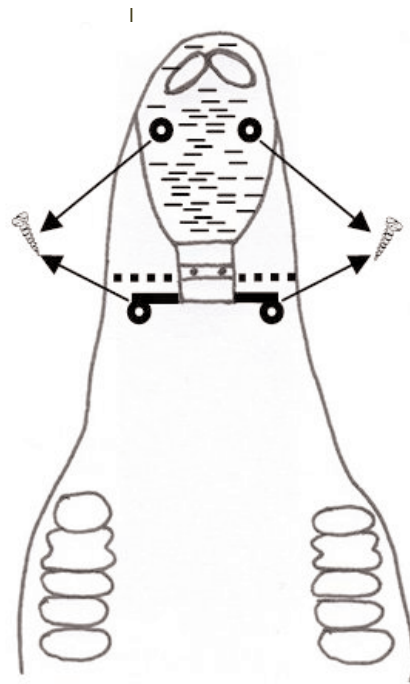
Unilateral expansion screws (Forestadent 134-1315) were used for distractors. The screw was placed parallel to the midpalatal suture and its anterior portion was connected to acrylic portion of the device.

Four loops providing the connection of the pins which will be inserted to bone were bent. When two of the loops were soldered at the behind of the screw, the others were placed in the acrylic portion (Figure 1).

The acrylic extended to the labial surfaces of the teeth in the anterior region (Figure 2).

#### Surgical Technique

Preoperative antibiotic prophylaxis was administered and the animals were prepared for the procedure under the guidelines of surgical disciplines. Anesthesia was achieved by IM injection of 30 mg Ketalar (Ketamine HCl -Eczacıbaşı) and 4mg Xylazine HCl (Rompun Bayer). Following the adaptation of the individual distractors and taking care that a band of mucoperiosteum was left at the palate bilateral vertical incisions extending palatinally



Şekil 1. Distraktör yapımı.

Figure 1. Construction of distractor.





Şekil 2. a. Distraksiyon Öncesi  
b. Distraksiyon Sonrası.

Figure 2. a. Before distraction,  
b. After distraction.



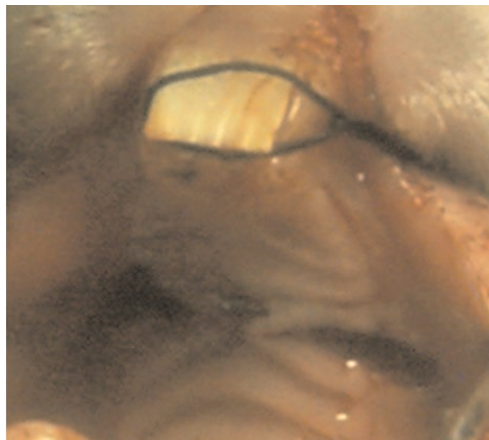
lerin maksillasına uyumlandırıldı. Apareyde vidanın bulunduğu bölgede mukoperiosteal bir bant bulunacak şekilde sağ ve sol tarafta ön ve arka dişler arasındaki mesafenin ortasında hafifçe vestibüler sulkusa uzanan dikey insizyonlar yapıldı (Şekil 3). Aparey yerinden çıkartılarak her iki tarafta lateral maksiller duvarlar açığa çıkarılacak şekilde mukoperiosteal flap periost elevatörü kullanılarak kaldırıldı. Yumuşak dokular korunarak 0.3 mm cerrahi frezler ve steril serum fizyolojik irrigasyonu ile palatal kemik ve lateral maksiller duvarda kortikotomi yapıldı. Kortikotomi sonrasında kemik parçada serbestleştirme yapılmadı. Kanama kontrolünü takiben operasyon bölgesi primer olarak suture edildi.

#### Distraktörün Uygulanması

Distraktör ön dişlere cam iyonomer simanla yapıştırıldı. Distraktörün önünde ve arkasında bulunan loopların içinden frezle transmukozal olarak palatal kemikte vida yuvaları hazırlandı. 5 ve/veya 7 mm'lik titanyum vidalar (Howmedica Leibinger Inc.) transmukozal olarak yerleştirilerek aparey sabitlendi.

Şekil 3. Cerrahi insizyon.

Figure 3. Surgical incision.



were made at the vestibular sulcus at midway between anterior and posterior teeth. (Figure 3) Soft tissues were undermined thoroughly creating a mucoperiosteal tunnel between the bilateral incision sites. Corticotomy of palatal bone and lateral maxillary walls was accomplished with 0.3 mm tapered surgical burs drilled at 3000 rpm under sterile saline irrigation. The bone was not loosened after corticotomy. Following haemostasis incisions were sutured primarily.

#### Application of the Distractors

Distractors were luted to the anterior teeth with glass ionomer cement. Screw holes were drilled transmucosally adjacent to the bone that the loops fabricated anteriorly and posteriorly at the distractor. Then 5 and/or 7 mm pins (titanium screws Howmedica Leibinger Inc) were screwed transmucosally.

#### Activation of the Distractors

Following 3 days of initial healing period distraction was initiated at postoperative fourth day. Advancement of 0.6 mm was performed once daily. In order to achieve 4.8 mm of advancement, the screw was activated for 8 consecutive days (Figure 2 a-b). Then; the distractor device was stabilized and left in place for 12 days.

#### Application of TGF,1

A solvent pack was prepared from lyophilized powder of TGFβ1 (Sigma T1654) according to the manufacturer's instructions in the laboratory of department of biochemistry.



### Distraktörün Aktivasyonu

3 günlük başlangıç iyileşmeyi takiben, 4.günde, günde bir kere 0,6 mm aktivasyon olacak şekilde vida 8 gün boyunca aktive edildi (Şekil 2 a,b).

### TGF,1'in Uygulanması

Toz halinde ve cam viallerde paketlenmiş olan liyofilize TGFβ1 (Sigma T1654)' nın kullanımını için, üretici firmanın önerileri doğrultusunda saklama ve çözme işlemleri Gazi Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında yapıldı. 40 İl 0,1 N HCl ile distile su karışımı ile hazırlanan ve %0,1 sığır serum albumini içeren toplam 10 ml'lik 4mM HCl solüsyonu elde edilerek bu solüsyon 0,2 İl membranefiltreden (Sartorius Minisart SM-16534) geçirilerek çözücü tampon hazırlandı. 1İg TGFβ1 çözücü tampona eklendi. Taşıyıcı olarak hidrokümetilselüloz (Natrasol, Aqualon Hercules Brussels) kullanıldı. Hazırlanan solüsyon eksojen yolla distraksiyon bölgesinin sağına ve soluna 100 ng olacak şekilde vida açılmaya başladıktan 24 saat sonra tek doz olarak enjekte edildi.

Her iki grupta aktif distraksiyon işlemi (vidanın açılması) bittikten sonra vidalar akril ile sabitlenerek distraktör 12 gün ağızda tutuldu; 13.günde tavşanlardan materyal toplandı ve tavşanlar yüksek doz sodyum pentobarbitüral enjeksiyonu ile sakrifiye edildi.

### Histolojik Değerlendirme

Rutin fiksasyon ve dekalsifikasyon işlemlerini takiben 5-7 mikron kalınlığında doku kesitleri alınarak hematoksilen eosin ile boyandı ve lam üzerinde değerlendirildi. (Mikroskopik inceleme için Nikon Eclipse E 200, Fotomikroskopi için Nikon Eclipse E 600 kullanıldı). Nötrofil lökosit yoğunluğu, lenfosit plazmosit yoğunluğu, fibroblast yoğunluğu, kollojen birikimi, yeni kemik yapımı (trabekül yoğunluğu), osteoblastik hücre yoğunluğu, kompakt kemik oluşumu, yeni kemik / kemik defekti oranı, osteoclastik hücre yoğunluğu histopatolojik olarak değerlendirildi.

Bu parametrelerde; histolojik inceleme semikantitatif olarak + = 1, ++ = 2, +++ = 3, - = 0 olarak değerlendirildi. Trabekül yoğunluğu X10 magnifikasyon alanındaki sayıya göre 1-10, 11-20, 21 ve üzeri olarak saptandı. Ayrıca yeni kemik oluşumu tüm distraksiyon alanına oranlanarak iki gruptaki yüzdeler el-

4mM HCl containing 0.1% cattle serum albumin was prepared by combining distilled water with 40 İl 0.1 N HCl in a total volume of 10 ml, and filtering through 0.2 İl membrane (Sartorius Minisart SM-16534). Finally 1İg TGFβ1 was added to the solvent and hydroxymethylcellulose (Natrasol, Aqualon Hercules Brussels) was used as a carrier. A single injection of 100 ng of the solution to both of the distraction sides was made after 24 hours of the first activation of the screw in second group. The volume of TGF,1 stock solution was small enough to allow even coating of the bone surfaces.

Following the completion of active distraction in both groups, the screws were fixed with acrylic resin. The rabbits were sacrificed by injection of overdose sodium pentobarbital after 12 days and specimens were collected for histopathological evaluation.

### Histological Evaluation

Following routine fixation and decalcification 5-7 micron thick serial sections were obtained and stained with Haematoxyline and Eosin. Neutrophil leucocyte infiltration, lymphocyte plasmocyte infiltration, fibroblast infiltration, collagen deposition, new bone formation (Trabecular Density), osteoblastic cell, compact bone formation, new bone formation/bone defect ratio, osteoclasts were taken into consideration in histopathological evaluation. Semicantitative histopathologic evaluation was accomplished according to these parameters as + = 1, ++ = 2, +++ = 3, - = 0. Trabecular Density was determined as 1-10, 11-20, 21 and more by the number of the trabecules within the X10 magnification area. The ratio of new bone formation to the bone defect area at the distraction site was calculated in both groups.

### Investigation of Lateral Cephalometric Radiographs

The landmarks and planes used in the lateral cephalometric films (23) (Figure 4):

Po: The most superior and posterior point of cranial base

N: The most superior point of nasofrontal



de edildi.

#### Lateral Sefalometrik Filmlerin İncelenmesi

Lateral sefalometrik filmlerde kullanılan noktalar (23) (Şekil 4):

Po: Kranial kubbenin en arka ve üst noktası

N: Nazofrontal suturun en üst noktası

E: Ethmoid kemiğin arka sınırındaki en üst nokta ile frontal kemiğin kesişim noktası

Pr: Premaksilla alveolar proçesinin en ön ve alt noktası

Bu: Premaksillada üst kesici dişin palatal tarafındaki alveoli kemiği ile palatal kemiğin birleştiği nokta

Mu: Üst molar dişin en mezial yüzeyi ile maksiller kemiğin kesiştiği nokta

UI: Üst kesici kronunun en uç noktası

Mu-Bu: Palatal uzunluk

RD1: Referans düzlemi 1(N ve Po noktalarını birleştiren düzlem)

RD2: Referans düzlemi 2 (RD1'e Po'dan indirilen dik düzlem)

Po-EL: Nazokraniyal uzunluk

Pr-EL: Viskokraniyal uzunluk

9 boyutsal ve 2 açısal ölçüm kullanıldı (Şekil 5).

#### İstatistiksel Değerlendirme

Grup içi değişimlerin önem kontrolü Wilcoxon testi, gruplararası değişimlerin önem kontrolü Mann-Whitney U testi ile yapıldı.

#### BULGULAR

##### Sefalometrik Bulgular

Distraksiyon sonunda palatal uzunluk (Mu-

suture

E: The intersection of frontal bone and the most superior and anterior point on the posterior border of ethmoid bone

Pr: The most inferior and anterior point of alveolar process of maxilla

Bu: The point of intersection of alveolar bone on the palatal side of the upper incisor tooth on premaxilla and palatal bone

Mu: The point of intersection of the most mesial surface of upper molar tooth and maxillary bone

UI: The most tip point of the upper incisor crown

Mu-Bu: Palatal length

RP1: Plane of reference 1(extends from N and Po)

RP2: Plane of reference 2 (perpendicular plane from point Po to RP1 plane)

Po\_EL: Nasocranial length

Pr-EL: Viscocranial length

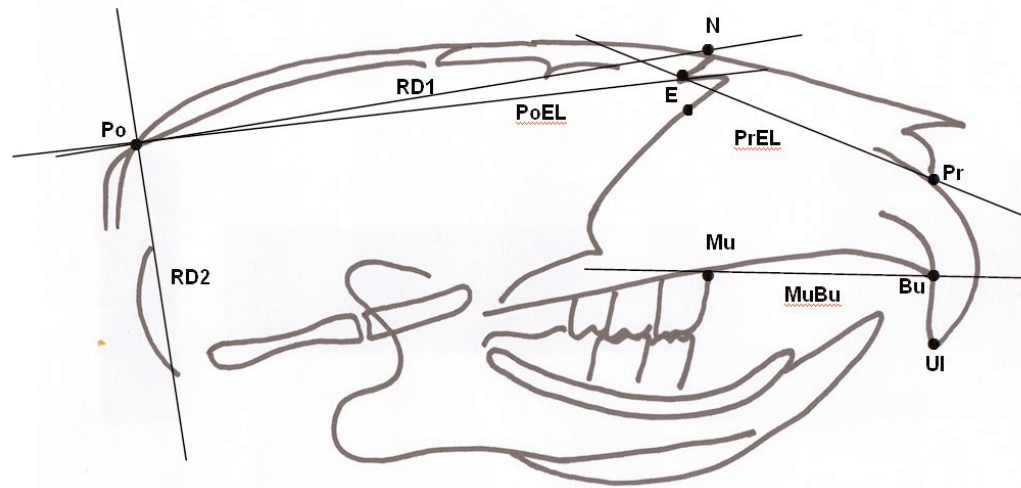
Linear and angular measurements were carried out (Figure 5).

#### Statistical Method

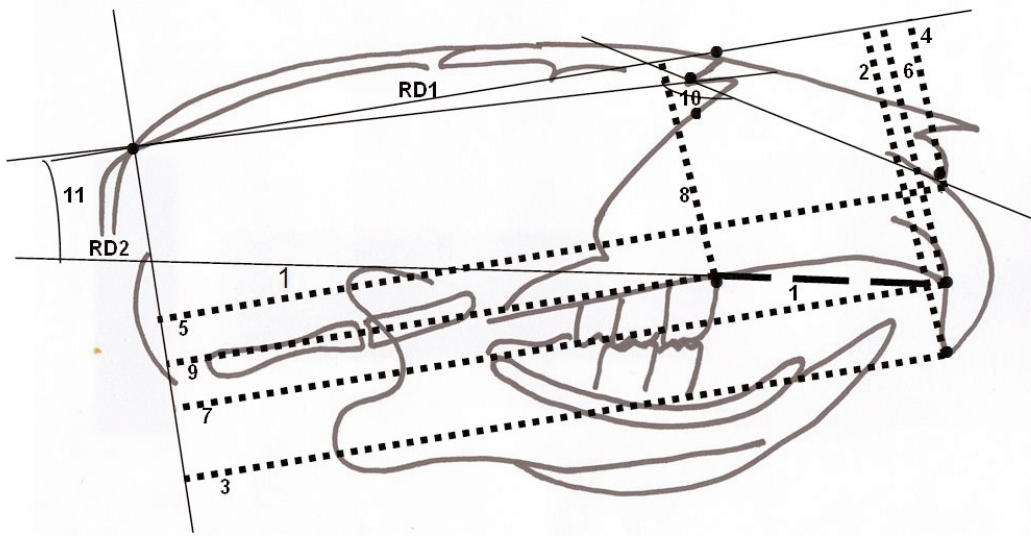
Difference between the groups were statistically analyzed using Mann-Whitney U Test, where as the results in each group were evaluated with Wilcoxon test.

Şekil 4. Anatmik Noktalar ve Düzlemler.

Figure 4. The Landmarks and Planes.







**Şekil 5.** Doğrusal Ölçümler:

1.Mu-Bu; 2.UI-RD1(üst kesicinin RD1'e dik uzaklığı); 3.UI-RD2(üst kesicinin RD2'ye dik uzaklığı); 4.Pr-RD1(Pr noktasının RD1'e dik uzaklığı); 5.Pr-RD2(Pr noktasının RD2'ye dik uzaklığı); 6.Bu-RD1(Bu noktasının RD1'e dik uzaklığı); 7.Bu-RD2(Bu noktasının RD2'ye dik uzaklığı); 8.Mu-RD1(Mu noktasının RD1'e dik uzaklığı); 9.Mu-RD2(Mu noktasının RD2'ye dik uzaklığı);

Açısal Ölçümler: 10.Pr-EL/Po-EL; 11.Mu-Bu/Po-EL;

Bu mesafesi), 1.grupta 3,79 mm; 2.grupta 3,70 mm artış gösterdi (Tablo I). Palatal uzunluktaki değişim ortalamaları arasındaki fark gruplararasıda önemli bulunmadı (Tablo II).

Her iki grupta U1-RD1 mesafesi, Pr-RD1 mesafesi, Bu-RD1 mesafesi ve Mu-Bu/Po-EL açısında istatistiksel olarak önemli düzeyde azalma; U1-RD2 mesafesi, Pr-RD2 mesafesi ve Bu-RD2 mesafesi ve Pr-EL/Po-EL açısında istatistiksel olarak önemli düzeyde artış gözlemlendi (Tablo I).

Her iki grupta U1-RD2 mesafesi ve Bu-RD2 mesafesindeki değişim miktarı aynı değerde bulundu (Tablo II).

#### Histolojik Bulgular (Tablo III)

Tüm gruplarda çeşitli düzeylerde inflamatuvar reaksiyon ve yeni kemik yapımı gözlemlendi.

Sadece distraksiyon uygulanan grupta çeşitli enflamasyon hücreleri ve aktif osteoblast ve fibroblastlarla karakterize yeni kemik trabekülleri gözlemlendi (Şekil 6). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (1.G-3.G) 1.grupta nötrofil, lenfosit, fibroblast yoğunluğu ve yeni kompakt kemik oluşumu istatistiksel olarak önemli düzeyde fazla bulundu (sırasıyla  $p < 0,01$ ,  $0,001$ ,  $0,05$ ,  $0,01$ ).

TGF,1ve distraksiyon uygulanan grupta da daha az enflamasyon hücresi ve daha aktif kemik yapımı ve daha fazla fibroblast olmak üzere 1. grupta benzer sonuçlar elde edildi (Şekil 7). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında (2.G-3.G), 2.grupta nötrofil, lenfosit, fibroblast yoğunluğu ve yeni kompakt kemik oluşu-

## RESULTS

### Cephalometric Results

The parameters were evaluated at the end of the distraction and it was observed that the Mu-Bu distance (palatal length) was increased by 3.79 mm in first group, by 3.70 mm in second group (Table I). The differences relating to the palatal length were not found significant between the groups (Table II).

In both groups the U1-RP1 distance, the Pr-RP1 distance, the Bu-RP1 distance and the Mu-Bu/Po-EL angle showed statistically significant reduction; the U1-RP2 distance, the Pr-RP2 distance, the Bu-RP2 distance and the Pr-EL/Po-EL angle showed statistically significant increase (Table I).

The difference relating to the U1-RP2 distance was same as the difference relating to the Bu-RP2 distance in the both groups (Table II).

### Histological Results (Table III)

Inflammatory reaction and new bone formation was evident in all groups at variable rates.

Various inflammatory cells and newly formed bone trabecules characterized by active osteoblasts, and fibroblasts were observed in animals receiving distraction only (Figure 6). The intensity of neutrophils, lymphocytes, fibroblasts and the formation of new compact bone was significantly higher ( $p < 0.01$ ,  $0.001$ ,  $0.05$ ,  $0.01$  respectively) in animals receiving distraction only when compared with con-

**Figure 5.** Linear

measurements: 1.Mu-Bu; 2.UI-RP1(perpendicular distance from UI to RP1) ; 3.UI-RP2(perpendicular distance from UI to RP2); 4.Pr-RP1(perpendicular distance from Pr to RP1); 5.Pr-RP2(perpendicular distance from Pr to RP2); 6.Bu-RP1(perpendicular distance from Bu to RP1); 7.Bu-RP2(perpendicular distance from Bu to RP2); 8.Mu-RP1(perpendicular distance from Mu to RP1); 9.Mu-RP2(perpendicular distance from Mu to RP2); Angular measurements: 10.Pr-EL/Po-EL; 11.Mu-Bu/Po-EL;)





**Tablo I.** Sefalometrik Değerlendirme (G: Grup).

**Table I.** Cephalometric Evaluation of the Rabbits (G: Group).

		Distraksiyon Öncesi (Before Distraction)		Distraksiyon Sonrası (After Distraction)		P
		Ortalama / Mean	SS / SD	Ortalama / Mean	SS / SD	
Mu-Bu (mm)	G 1	26,57	2,62	30,36	2,48	0,015*
	G 2	29,30	2,22	33,00	2,12	0,038*
UI-RD1 (mm)	G 1	46,86	3,73	45,14	3,36	0,017*
	G 2	48,80	2,95	47,00	2,98	0,042*
UI-RD2 (mm)	G 1	75,29	4,07	79,07	3,91	0,015*
	G 2	77,80	3,27	81,50	3,10	0,038*
Pr-RD1 (mm)	G 1	40,50	16,37	38,86	15,96	0,016*
	G 2	35,80	1,92	34,40	2,53	0,042*
Pr-RD2 (mm)	G 1	81,36	3,91	85,07	3,71	0,015*
	G 2	83,70	3,29	86,80	3,05	0,039*
Bu-RD1 (mm)	G 1	43,14	2,93	41,79	2,71	0,014*
	G 2	44,30	1,92	43,10	1,95	0,034*
Bu-RD2 (mm)	G 1	76,00	4,19	79,79	4,06	0,015*
	G 2	78,60	3,83	82,30	3,67	0,038*
Mu-RD1 (mm)	G 1	25,86	2,46	26,07	2,41	0,083
	G 2	27,00	1,90	27,20	2,08	0,157
Mu-RD2 (mm)	G 1	53,57	1,81	53,57	1,81	1,000
	G 2	54,20	1,64	54,20	1,64	1,000
Pr-EL/Po-EL (o)	G 1	137,43	3,15	139,07	3,17	0,016*
	G 2	139,00	3,32	140,50	3,46	0,039*
Mu-Bu/Po-EL (o)	G 1	35,71	3,65	33,21	3,88	0,016*
	G 2	33,40	4,05	31,00	4,29	0,038*

(\*P< 0,05)

**Tablo II.** Distraksiyonla Oluşan Değişimler ve Gruplararası Karşılaştırması (G: Grup).

**Table II.** The Mean Changes During the Distraction Period and Comparisons Between the Groups (G:Group).

	G 1		G 2		P
	Ortalama/Mean	SS / SD	Ortalama/Mean	SS / SD	
Mu-Bu (mm)	3,79	0,27	3,70	0,27	0,639
UI-RD1 (mm)	-1,71	0,70	-1,80	0,57	0,876
UI-RD2 (mm)	3,79	0,27	3,70	0,27	0,639
Pr-RD1 (mm)	-1,64	0,63	-1,40	0,65	0,530
Pr-RD2 (mm)	3,71	0,27	3,10	1,19	0,343
Bu-RD1 (mm)	-1,36	0,63	-1,20	0,45	0,755
Bu-RD2 (mm)	3,79	0,27	3,70	0,27	0,639
Mu-RD1 (mm)	0,21	0,27	0,20	0,27	1,000
Mu-RD2 (mm)	0,00	0,00	0,00	0,00	1,000
Pr-EL/Po-EL (o)	1,64	0,94	1,50	0,87	0,876
Mu-Bu/Po-EL (o)	-2,50	1,00	-2,40	0,82	0,876

mu ve kollajen birikimi istatistiksel olarak önemli düzeyde fazla bulundu (sırasıyla p<0,001, 0,05, 0,01, 0,01). yeni kemik / kemik defekti oranı istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek bulundu (p<0,01).

Sadece kortikotomi uygulanan tavşanlarda defekt alanın yeni kemik trabeküllerinden zengin olduğu ve az sayıda inflamatuvar hücre içerdiği; ara dokunun ise yer yer fibroblastlardan zengin ve ince kollajenize yapıda olduğu gözlemlendi (Şekil 8).

Birinci ve ikinci araştırma grubu karşılaştırıldığında (1.G-2.G), lenfosit yoğunluğu, trabekül yoğunluğu, yeni kemik yapımı ve yeni kemik /kemik defekti oranı arasındaki farklar sırasıyla p<0,05, 0,05, 0,01, 0,01 düzeylerin-

trols (1st G-3th G) Similar results were seen in animals receiving TGFβ1 after distraction with less inflammatory cells but more active bone formation and more fibroblasts in connective tissue (Figure 7). The intensity of neutrophils, lymphocytes, fibroblasts and the formation of new compact bone was significantly higher (p<0.001, 0.05, 0.01, 0.001 respectively) in group receiving distraction with TGF,1 when compared with controls (2nd G-3th G). The ratio of newly formed bone to bone defect was significantly higher (p<0.01).

Newly formed bone trabecules, few inf-

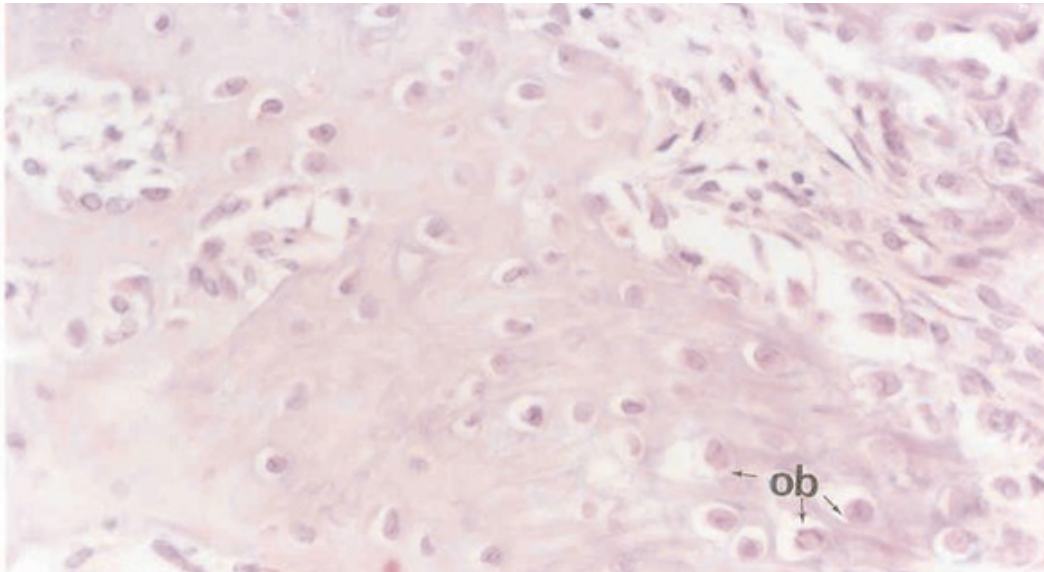


	1. G	2. G	3. G	P		
	Ortalama ± SS / Mean ± SD	Ortalama ± SS / Mean ± SD	Ortalama ± SS / Mean ± SD	1.G-3.G	1.G- 2.G	2.G-3.G
<b>Nötrofil lökosit Yoğunluğu / Neutrophil-Leucocyte Infiltration</b>	2,14 ± 0,69	2,00 ± 0,58	0,86 ± 0,38	0,002**	0,680	0,001***
<b>Lenfosit plazmosit Yoğunluğu / Lymphocyte-Plasmocyte Infiltration</b>	2,14 ± 0,38	1,43 ± 0,54	0,86 ± 0,38	0,000***	0,016*	0,044*
<b>Fibroblast Yo unlu u / Fibroblast Infiltration</b>	2,00 ± 0,82	2,00 ± 0,58	2,86 ± 0,38	0,036*	1,000	0,008**
<b>Kollojen Birikimi / Collagen Deposition</b>	1,29 ± 0,49	1,71 ± 0,49	0,86 ± 0,38	0,093	0,130	0,004**
<b>Yeni Kemik Yapımı (Trabekül Yoğunluğu) / New Bone Formation (Trabecular Density)</b>	1,57 ± 0,54	2,43 ± 0,74	1,86 ± 0,38	0,280	0,038*	0,120
<b>Osteoblastik Hücre / Osteoblastic Cell</b>	1,71 ± 0,49	2,43 ± 0,79	1,86 ± 0,38	0,550	0,068	0,120
<b>Kompakt Kemik Oluşumu / Compact Bone Formation</b>	1,00 ± 0,58	2,00 ± 0,58	0,14 ± 0,38	0,008**	0,007**	0,000***
<b>Yeni Kemik Yapımı / Kemik Defekti Oranı (New Bone Formation / Bone Defect Ratio)</b>	1,86 ± 0,90	3,50 ± 0,96	1,86 ± 0,38	1,000	0,007**	0,004**
<b>Osteoklastik Hücre / Osteoclastic Cell</b>	0,29 ± 0,49	0,14 ± 0,38	0,14 ± 0,38	0,550	0,550	1,000

\*\*P < 0,01    \*\*\*P < 0,001

**Tablo III.** Histolojik Parametrelerin Değerlendirilmesi ve Gruplararası Karşılaştırılması (G: Grup)

**Table III.** Evaluation of Histological Parameters and Comparisons Between the Groups (G: Group)



**Şekil 6.** Grup 1 de yeni şekillenmiş osteoblastlar (A) osteoblast X 200HE.

**Figure 6.** Newly formed osteoblasts in group 1 (A) ob:osteoblast X 200HE.

de önemli bulundu.

#### TARTIŞMA

Çalışmamızda elde ettiğimiz sefalometrik bulgular, kemik diş destekli distraktör kullanılarak premaksillanın ileri alındığını göster-

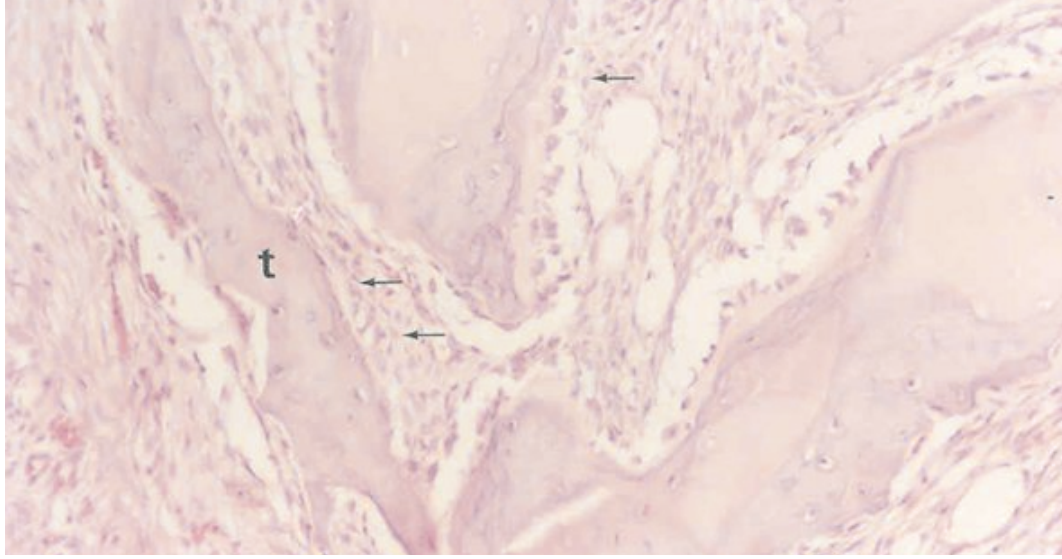
lammatory cells and abundant fibroblasts were evident in animals receiving corticotomy only (Figure 8)

The intensity of lymphocytes, trabecular



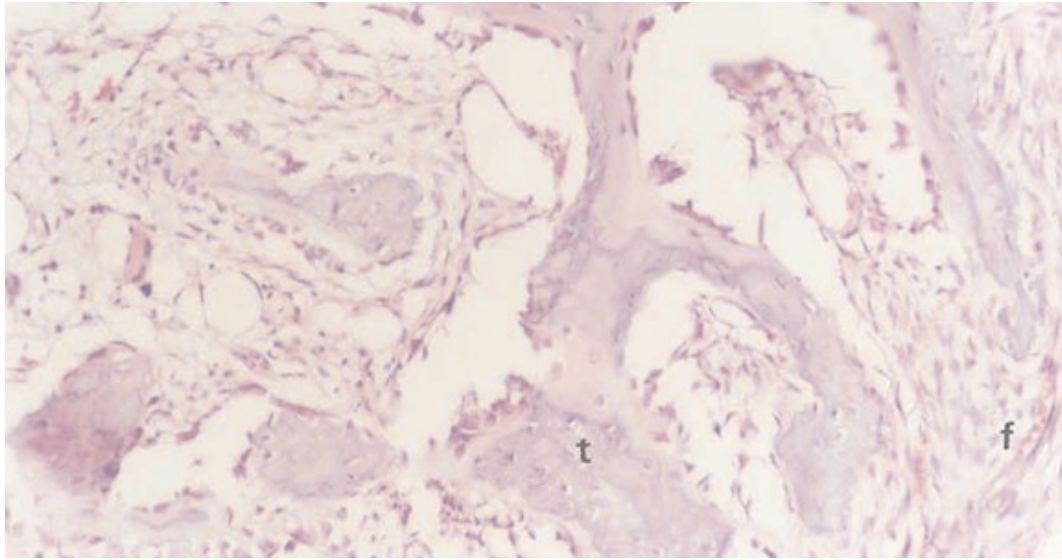
**Şekil 7.** Grup 2 de aktif osteoblastlarla çevrili kemik trabekülleri(t) (B) X100HE.

**Figure 7.** Bone trabecules(t) surrounded by active osteoblasts in group 2 (B) X100HE.



**Şekil 8.** Kontrol grubunda yeni şekillenmiş trabeküler kemik (t) ve fibroblastlar (f) X100HE.

**Figure 8.** Newly formed trabecular bone (t) and fibroblasts (f) in control animal X100HE.



mektedir.

Kortikotomi bölgesine lokal olarak TGF $\beta$ 1 uygulanan ve uygulanmayan her iki grupta da Pr-RD1 ve Bu-RD1 mesafelerinde ve Mu-Bu/Po-EL açısında azalma; Pr-RD2 ve Bu-RD2 mesafeleri ile palatal uzunlukta (Mu-Bu mesafesi) artış premaxillanın ileri ve yukarı yönde hareket ettiğini göstermektedir. Her iki grupta U1-RD2 mesafesi ile Bu-RD2 mesafesindeki değişim miktarlarının aynı değerde olması, intraoral kemik-diş destekli distraktörün dişsel hareketten daha çok iskeletsel hareket oluşturduğunu belirtmektedir.

Konvansiyonel osteotomi teknikleri ile karşılaştırıldığında, distraksiyon osteogenezis tekniğinin kemik greftine ihtiyaç duyulmaması, büyüme ve gelişim dönemindeki çocuklarda da uygulanabilmesi ve ayrıca yeni oluşturulan kemiğe yumuşak dokuların uyum ko-

bone, and the formation of new compact bone and the ratio of newly formed bone to bone defect was significantly higher ( $p < 0.05$ , 0.05, 0.01, 0.01 respectively) in animals receiving TGF $\beta$ 1 after distraction when compared with animals receiving distraction only (1st G-2nd G).

#### DISCUSSION

Cephalometric results of our study demonstrated that premaxilla moved in forward direction with bone-teeth borne distractor.

The decrease in Pr-RD1, Bu-RD1 distances and Mu-Bu/POEL angle and; increase in Pr-RD2, Bu-RD2 distances and palatal length demonstrated that premaxilla moved forward and upward directions in both groups. It is





laylığı gibi avantajlara sahip olduğu bildirilmektedir (1,24-27). Bu nedenle distraksiyon osteogenezi günümüzde tercih edilen bir cerrahi yöntem olmuş, sıklıkla mandibulada uygulanmasına rağmen, maksillada da kullanımını ile ilgili çeşitli raporlar yayınlanmıştır. Maksiller yetersizliğe sahip olgularda diş destekli distraksiyon osteogenezi yöntemi ile maksillanın ilerletilmesi yapılmaktadır. Bu amaçla, ekstraoral apareylerden çok çalışmamızda olduğu gibi intraoral apareyler tercih edilmektedir (1,2,9,28).

Altuna ve arkadaşları (9,28) adolosan maymunlarda diş destekli aparey kullanarak maksillanın ön kısmının ileri hareketi ile maksillanın boyunun başarılı bir şekilde arttırılabileceğini ileri sürmüşlerdir. Araştırmacılar, aynı zamanda distraksiyon osteogenezi ile büyüyen çocuklarda maksiller yetersizliğin kemik greftine ihtiyaç kalmadan giderilebileceğini, çapraşıklık olgularında yer elde edilebileceğini belirtmişler ve bu olgularda retansiyon süresi sonunda relaps saptamamışlardır.

Block ve arkadaşları (1,2) çalışmalarında, diş destekli distraktör kullanıldığında dişsel hareketin iskeletsel hareketten daha fazla olması nedeniyle relaps eğiliminin artacağı sonucuna varmışlardır. Araştırmacılar (3) daha sonraki çalışmalarında kemik destekli distraktörün diş destekli distraktörlere göre daha üstün olduklarını bildirmişlerdir.

Kaluzinski ve arkadaşları (29) ağız içi kemik destekli distraktör kullandıkları 3 olguda fonksiyonel ve estetik sonuçları göstermişlerdir.

Distraksiyon osteogenezi canlı kemik oluşumunu sağlayan cerrahi bir işlemdir. Distraksiyon bölgesinde differansiye olmamış mezenşimal hücreler kemik hücrelerine farklılaşmakta ve kemik dokusu oluşturmaktadır. Kemik doku rejenerasyon yeteneğine sahiptir ve herhangi bir greft materyali uygulanmasa da kritik boyuttaki kemik defektlerinin iyileşmesi mümkündür. Distraksiyon osteogenezi istenen uzunlukta kemik elde edilebilmesi için oldukça uzun bir süre gerekmektedir. Bu nedenle yeni kemik oluşumunu hızlandıracak, konsolidasyon süresini azaltacak yöntemlerin arayışı sürmektedir. Bu amaçla, büyüme faktörlerinin kullanımı pek çok çalışmada araştırılmıştır. Distraksiyon bölgesine uygulanan büyüme faktörleri kemik rejenerasyonunu ve kemik kalitesini arttırmakta, distraksiyonun konsolidasyon süre-

speculated that the bone-tooth borne distraction appliance will result in bone movement rather than dental movement because of the changes of U1- RD2 and Bu-RD2 distances are same in both groups.

When compared with conventional osteotomy techniques, distraction osteogenesis technique has been reported to have certain advantages such as elimination of the use of bone grafts and being used in the growth period. Additionally distraction osteogenesis establishes the augmentation of the soft tissue simultaneously with the bone (1,24-27). Although distraction osteogenesis is a popular technique in mandibular advancement, in recent years anterior maxillary advancement has been achieved by using distraction osteogenesis in maxillary deficiency cases using tooth borne distractors. The intraoral appliances were preferred generally as in our study (1,2,9,28).

Altuna et al (9,28) who used a tooth borne device on adolescent primates, showed that maxilla could be lengthened successfully with the forward movement of the anterior maxilla. They also mentioned that distraction osteogenesis could make it possible to treat growing patients with maxillary deficiency without the need of bone grafts and could be created space for crowded cases. Also no relapse was detected at the end of the retention period.

Block et al (1,2) determined that when a tooth borne distractor was used, dental movement exceed bone movement and they concluded that the relapse tendency was greater. In their following study (3) they reported that a bone borne device for distraction osteogenesis yielded superior results to the solely tooth borne device as previously published.

Kaluzinski et al (29) achieved premaxillary distraction using intraoral bone supported devices in three patients and reported functional and esthetic results.

Distraction osteogenesis is a procedure that allows generation of viable bone. Bone is differentiated at distraction site by recruitment of primitive mesenchymal cells. Bone





sini kısaltmakta olup; bu etkileri uygulanma zamanları ile ilişkili olmaktadır (13,16,17). Fibroblast büyüme faktörü 2 distraksiyon osteogenezisi uygulanan yaşlı ratlarda endosteal defektleri azaltmıştır (30). Çalışmamızda distraksiyon bölgesinde yeni oluşan kemik oranı distraksiyondan 24 saat sonra distraksiyon bölgesine lokal olarak transforme edici büyüme faktörü ,1 uygulanan hayvanlarda anlamlı derecede fazla bulunmuştur. Bununla birlikte, her büyüme faktörü ile benzer sonuç elde edilmemektedir. Koyun modelinde, distraksiyon bölgesine bir büyüme faktörü olan plateletten zengin plazma uygulanmasının kemik rejenerasyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Büyüme faktörü uygulanan ve uygulanmayan her iki grupta da distraksiyon bölgesinde yeni kemik oluşumu izlenmekle birlikte üç boyutlu görüntülemeye plateletten zengin plazma uygulanan grupta kemik yoğunluğunda ve hacminde önemli bir farklılık izlenmemiştir (17). Osteojenik protein 1'in distraksiyon döneminin sonunda yalnız bir kez uygulanması kemik konsolidasyonu üzerinde belirgin bir etki oluşturmamış ve distraksiyonun daha erken dönemde uygulanmasının daha yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır (14).

Sonuç olarak bu çalışmada, maksilla ağız içi distraksiyon osteogenesis tekniği ile sagittal yönde uzatılmış ve TGFβ1 uygulanan grupta histolojik olarak kemik iyileşmesi daha iyi bulunmuştur.

Araştırma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (03/99-01) tarafından desteklenmiştir.

**Teşekkür:** Bu çalışmada yardımlarından dolayı Prof. Dr. Tülin Oygür ve Dr.Tayfun İde'ye teşekkür ederiz.

has a capacity to regenerate and fill the critical size defects without application of any promoting material. As we need long time for the new regenerated bone length after distraction osteogenesis, new researches were made for shorten the consolidation time . There is evidence that growth factors, applied to the distraction site, increased bone regeneration, enhanced bone quality and may shorten the consolidation period of distraction, and their effect is related with the time of application (13,16,17). Fibroblast growth factor-2 has increased the endosteal deficits in old rats after distraction osteogenesis (30).

In this present study the ratio of newly formed bone at distraction site was found significantly higher in animals where transforming growth factor beta 1 has been applied to the distraction site 24 hours after distraction. Therefore all the growth factors do not have same effects. It was shown on a sheep model that no matter growth factor is applied to the distraction site new bone was generated in the distraction zone in all groups. However, Platelet rich plasma had an effect on bone regeneration there was no difference in volume and density of bone between growth factor treated and untreated groups (17). It was shown that the injection of osteogenic protein 1 given at the end of the distraction period, had no significant effect on bone consolidation and it is concluded that it could be more useful when applied early in the distraction phase (14).

The result of this study suggests that maxilla could be lengthened successfully intraoral distraction osteogenesis technique and histological bone healing is much better in the distraction group which treated with TGFβ1.

Supported by Gazi University Scientific Research Projects Fund (03/99-01).

**Acknowledgement:** The authors would like to express their gratitude to Prof. Tülin Oygür and Dr. Tayfun İde.



## KAYNAKLAR/REFERENCES

1. Block MS, Brister GD. Use of distraction osteogenesis for maxillary advancement: preliminary results. *J Oral Maxillofac Surg.* 1994;52:282-6.
2. Block MS, Cervini D, Chang A, Gottsegen GB. Anterior maxillary advancement using tooth-supported distraction osteogenesis. *J Oral Maxillofac Surg.* 1995;53:561-5.
3. Block MS, Akin R, Chang A, Gottsegen, Gardiner D. Skeletal and dental movements after anterior maxillary advancement using implant-supported distraction osteogenesis in dogs. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997; 55:1433-9.
4. Swennen G, Dujardin T, Goris A, De Mey A, Malevez C. Maxillary distraction osteogenesis: a method with skeletal anchorage. *J Craniofac Surg.* 2000;11:120-7.
5. Vaughn GA, Mason B, Moon HB, Turley PK. The effects of maxillary protraction therapy with or without rapid palatal expansion: a prospective, randomized clinical trial. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2005; 128:299-309.
6. Baccetti T, Franchi L, McNamara JA. Treatment and posttreatment craniofacial changes after rapid maxillary expansion and facemask therapy. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2000;118:404-13.
7. Bell W, Levy B. Healing after anterior maxillary osteotomy. *J Oral Surg.* 1970; 28:728-34.
8. Westwood R, Tilson H. Complications associated with maxillary osteotomies. *J Oral Surg.* 1975; 33:104-7.
9. Altuna G, Walker DA, Freeman E. Surgically assisted rapid orthodontic lengthening of the maxilla in primates-a pilot study. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1995;107:531-6.
10. Bengi O, Gürton Ü, Okcu KM, Aydınug Y. Premaxillary Distraction Osteogenesis with an individual tooth-borne appliance. *Angle Orthod.*; 2004;74:420-31.
11. Dolanmaz D, Karaman AI, Özyeşil AG. Maxillary anterior segmental advancement by using distraction osteogenesis: a case report. *Angle Orthod.* 2002; 73:201-5.
12. Wozney JM. Bone morphogenetic protein and their gene expression. In: Noda M, ed.: *Cellular and Molecular Biology of Bone.* San Diego: Academic Press: p.131-67,1993.
13. Williams JK, McCarthy JG. Osteodistraction: the present and the future. In: Ward Booth P, Schendel SA, Hausamen JE ed.: *Maxillofacial Surgery.* Edinburgh: Churchill Livingstone; Vol II, p.953-73,1999.
14. Hamdy RC, Amako M, Beckman L, Kawaguchi M, Rauch F, Lauzier D, Steffen T. Effects of osteogenic protein-1 on distraction osteogenesis in rabbits. *Bone.* 2003;33:248-55.
15. Kitoh H, Kitakoji T, Tsuchiya H, Mitsuyama H, Nakamura H, Katoh M, Ishiguro N. Transplantation of marrow-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma during distraction osteogenesis- a preliminary result of three cases. *Bone.* 2004;35:892-8.
16. Rachmiel A, Aizenbud D, Peled M. Enhancement of bone formation by morphogenetic protein-2 during alveolar distraction: an experimental study in sheep. *J Periodontol.* 2004;75:1524-31.
17. Swennen GR, Schutyser F, Mueller MC, Kramer FJ, Eulzer C, Schliephake H. Effect of platelet-rich-plasma on cranial distraction osteogenesis in sheep: preliminary clinical and radiographic results. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2005;34:294-304.
18. Lawrence DA. Transforming growth factor-beta: a general review. *Eur Cytokine Netw;* 1996;7:363-74.
19. Ranieri AD, Viridi AS, Kuroda S, Shott S, Leven RM, Hallab NJ, Sumner DR. Local application of rh TGF- $\beta$ 2 enhances peri-implant bone volume and bone-implant contact in a rat model. *Bone.*; 2005;37:55-62.
20. Nielsen HM, Andreassen TT, Ledet T, Oxlund H. Local injection of TGF- $\beta$ , increases the strength of tibial fractures in the rat. *Acta Orthop Scand.* 1994;65:37-41.
21. Sumner DR, Turner TM, Urban RM, Leven RM, Hawkins M, Nichols EH, McPherson JM, Galante JO. Locally delivered rhTGF- $\beta$ 2 enhances bone ingrowth and bone regeneration at local and remote sites of skeletal injury. *J Orthop Res.* 2001;19:85-94.
22. Mehrara BJ, Rowe NM, Steinbrech DS, Dudziak ME, Saadeh PB, McCarthy JG, Gittes GK, Longaker MT. Rat mandibular distraction osteogenesis:II. Molecular analysis of transforming growth factor beta-1 and osteocalcin gene expression. *Plast Reconstr Surg.* 1999;103:536-47.
23. Engström C, Linde A, Thilander B. Craniofacial morphology and growth in the rat. *J.Anat.* 1982;134:299-314.
24. Gueressi J, Ferrentino G, Margulies D, Fiz D. Lengthening of the mandible by distraction osteogenesis: Experimental study in rabbits. *J Craniofac Surg.* 1994;5:313-7.
25. Havlik RJ, Barlett SP. Mandibular Distraction Lengthening in the severely hypoplastic mandible: A problematic case with tongue. *J Craniofac Surg.* 1994;5:305-11.
26. Ke,ler P, Wiltfang S, Masgau SS, Hirschfelder U, Neukam FW. Distraction osteogenesis of the maxilla and midface using a subcutaneous device: Report of four cases *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2001;39:13-21.
27. Rachmiel A, Levy M, Laufer D. Lengthening of the mandible by distraction osteogenesis: report of cases. *J Oral Maxillofac Surg.* 1995;53:838-46.
28. Altuna G, Walker DA, Freeman E. Surgically assisted rapid orthopedic lengthening of the maxilla in primates-relapse following distraction osteogenesis. *Int J Adult Orthodont Orthognath Surg.* 1995;10:269-75.
29. Kaluzinski E, Benateau H, Labbe D, Mundreuil M. Reconstruction du premaxillaire par distraction osteogenique. A propos de trois cas cliniques. *Ann Chir Plast Esthet.* 2001;46:293-303.
30. Aronson J. Modulation of distraction osteogenesis in the aged rat by fibroblast growth factor. *Clin Orthop Relat Res.* 2004; 425:264-83.