

بررسی هیستولوژیک استخوان بازسازی شده در دو تکنیک کشش کال استخوانی و پیوند استخوانی اتوژن در گوسفند

دکتر ناصر سرگلزایی*#، دکتر نوشین محتمش**، دکتر حمیدرضا عرب*، دکتر امیر معین تقوی*

* دانشیار گروه پرئودانتیکس دانشکده دندانپزشکی و مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

** دانشیار گروه آسیب شناسی دهان، فک و صورت دانشکده دندانپزشکی و مرکز تحقیقات دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

تاریخ ارائه مقاله: ۸۷/۴/۳۰ - تاریخ پذیرش: ۸۷/۷/۱۰

Histologic Evaluation of Regenerated Bone in Distraction Osteogenesis Technique and Autogenous Bone Graft in Sheep

Naser Sargolzaee*#، Nooshin Mohtasham**، HamidReza Arab*، Amir Moein Taghavi*

* Associate Professor, Dept of Periodontics, School of Dentistry and Dental Research Center of Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

** Associate Professor, Dept of Oral & Maxillofacial Pathology, School of Dentistry and Dental Research Center of Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

Received: 20 Jul 2008; Accepted: 1 October 2008

Introduction: The success rate of implantation in augmented ridges depends on the quality of regenerated bone. Histologic studies are needed to establish bone formation in these techniques. This study was performed to compare histologic features of regenerated bone in Distraction osteogenesis and autogenous bone graft in ridge augmentation.

Materials & Methods: This pilot study was done in mandibular dental pads of sheep. Distraction osteogenesis was performed on one side and the other side was augmented using autogenous bone graft. Posterior pad in each side was used as control. After 8 weeks, reentries were performed and sheep were sacrificed. Bone tissue samples of each area were prepared for histologic evaluation and comparison.

Results: In control area, only normal bone tissue was observed and there was no evidence of fibrous or cartilage tissue. Bone trabecules in lamellar form were accompanied with resting zones with less inactive fibrous tissue. There was moderate to severe chronic inflammation. In distraction zone, mature woven and lamellar bone was observed in some vascular and cellular stroma containing collagen fibers and blood vessels. There was less inflammation. In some area there was some cartilage.

Conclusion: In spite of some advantages for autogenous bone graft, Due to its complications, technical difficulties, bone resorption and unfavourable histologic features compared with distraction, distraction osteogenesis technique could be used for ridge augmentation.

Key words: Distraction osteogenesis, autogenous bone graft, histologic evaluation.

Corresponding Author: sargolzaen@mums.ac.ir

J Mash Dent Sch 2009; 33(1): 41-6.

چکیده

مقدمه: میزان موفقیت ایمپلنت های قرار داده شده در تکنیک های عریض کردن ریح بستگی به کیفیت استخوان بازسازی شده دارد، بنابراین جهت اثبات این امر نیاز به بررسی هیستولوژیک این روش ها است. این مطالعه به منظور مقایسه هیستولوژیک استخوان بازسازی شده در دو تکنیک دیسترکشن استخوانی و پیوند استخوانی اتوژنوس که جهت عریض کردن ریح استفاده شده است انجام گردید.

مواد و روش ها: این مطالعه به صورت Pilot بر روی نواحی بی دندانی فک گوسفند (Dental pad) انجام شد. در قسمت قدامی یک طرف مندیبول گوسفند روش دیسترکشن استخوانی و در طرف دیگر فک تکنیک پیوند استخوانی اتوژنوس انجام و قسمت های خلفی ناحیه به عنوان کنترل انتخاب شد. پس از ۸ هفته از انجام تکنیک های فوق گوسفندها قربانی شدند و باز کردن مجدد محل انجام شد و بافت های استخوانی در هر ناحیه جهت ارزیابی هیستولوژیک آماده و مقایسه هیستولوژیک انجام شد.

یافته ها: در ناحیه کنترل تنها بافت استخوانی نرمال مشاهده شد و هیچگونه شواهدی مبنی بر وجود بافت فیبروزه یا غضروف وجود نداشت. در ناحیه پیوند تراپکول های استخوانی به صورت لاملار همراه با نواحی Resting با بافت فیبروزه کمتر و غیر فعال مشاهده شد. آماس در این ناحیه به صورت مزمن متوسط و در بعضی نواحی شدید بود. در ناحیه دیسترکشن ترکیبی از استخوان Woven و لاملار بالغ دیده شد که در استرومایی از الیاف کلاژن و عروق خونی و فیبروبلاست های درشت و فعال قرار داشتند. میزان آماس نسبت به ناحیه پیوند کمتر بود. در بعضی از قسمت ها غضروف نیز وجود داشت.

نتیجه گیری: علیرغم وجود بعضی مزایا برای پیوند اتوژنوس، ولی به علت داشتن مشکلات تکنیکی برداشتن پیوند و وجود تحلیل استخوان در دوره

ترمیم و داشتن تصویر هیستولوژیک ضعیف در مقایسه با دیسترکشن، تکنیک استئوژنریس دیسترکشن می تواند به عنوان تکنیک مناسب جهت افزایش ضخامت استخوانی بکار برده شود.

واژه های کلیدی: دیسترکشن استخوانی، پیوند استخوان اتوژنوس، بررسی هیستولوژیک.

مجله دانشکده دندانپزشکی مشهد / سال ۱۳۸۸ دوره ۳۳ / شماره ۱ : ۶-۴۱.

مقدمه

بازسازی دندانی بیماران با بی دندانی پارسیل یا کامل بوسیله ایمپلنت های دندانی روش رایجی در دهه های گذشته بوده که همراه با نتایج طولانی مدت، قابل اعتماد می باشد.^(۱-۲) در عین حال وضعیت هایی از ریج های بی دندانی وجود دارد که جهت قراردادن ایمپلنت نامطلوب می باشد و می تواند از نقطه نظر فانکشنال و زیبایی اختلال ایجاد کند. برای تصحیح این موقعیت ها انواع روش های جراحی پیشنهاد شده است: نظیر استفاده از پیوندهای استخوانی اتوژنوس^(۳-۵) رزتراسیون هدایت شده استخوانی^۱(GBR)^(۶-۷) و کشش کال استخوانی^۲(DO).^(۸-۱۰) علیرغم مطالعات زیادی که در ارتباط با این سه روش جراحی برای عریض کردن ریج وجود دارد اما هنوز مطالعات مقایسه ای در این زمینه کم می باشد. Chiapasco و همکارانش در مطالعه آینده نگر به روی انسان ها، دو تکنیک D.O و پیوند اتوژنوس را مقایسه نمودند و در این مطالعه شاخص هایی همچون توانایی این تکنیک ها در تصحیح ریج های آلونلار با نواقص عمودی، ظرفیت این تکنیک در حفظ استخوان کسب شده قبل و بعد از قرار دادن ایمپلنت و میزان موفقیت ایمپلنت های قرار داده شده در این استخوان را بررسی نمودند. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان موفقیت ایمپلنت ها در هر دو نوع استخوان بازسازی شده یکسان است. وی همچنین بیان نمود که نشان دادن ارجحیت یک تکنیک نسبت به دیگری مشکل و هر تکنیک مزایا و معایب خود را دارا می باشد. پیوند استخوانی اتوژنوس قابلیت انعطاف بیشتری دارد بطوریکه می توان از این تکنیک در تمامی موقعیت های کلینیکی استفاده کرد. اما عوارض احتمالی بعد از جراحی برای بیمار بیشتر است (خطر عفونت و تحلیل پیوند) در حالیکه تکنیک DO عوارض

کمتری دانسته اما محدودیت های بیشتری در استفاده آن وجود دارد؛ بعنوان مثال در استخوان هایی که ضخامت آن کم است امکان استفاده آن محدود می باشد و یا در طی دوره ترمیم استخوان بازسازی شده، امکان استفاده از پروتز موقتی نمی باشد.^(۱۱) در مطالعات دیگری توسط Chiapasco و تکنیک D.O و GBR با یکدیگر مقایسه شد. نتایج این مطالعات نشان داد که هر دو تکنیک نقص ریج های آلونلار را برطرف نموده است و از نظر فاکتورهای تکنیکی اطراف ایمپلنت اختلاف معنی داری بین دو گروه یافت نشد اما میزان موفقیت ایمپلنت های قرار داده شده در گروه DO بیشتر از گروه GBR بود.^(۱۲،۱۳) با توجه به اینکه میزان موفقیت ایمپلنت های قرار داده شده در هر تکنیک بستگی به کیفیت استخوان بازسازی شده دارد، بنابراین جهت اثبات این امر نیاز به بررسی هیستولوژیک این دو روش می باشد. Hodges و همکاران در مقایسه هیستولوژیک استخوان بازسازی شده با تکنیک DO و پیوند اتوژنوس گزارش کردند که در هر روش استخوان تراپکولار و هاورس بوجود آمده است ولی تعداد استئوبلاست ها در D.O نسبت به پیوند اتوژنوس بیشتر است و هیچگونه اختلافی در میزان مینرالیزاسیون وجود ندارد.^(۱۴)

مطالعات گسترده ای، در ارتباط با هیستولوژی استخوان تازه تشکیل شده توسط DO انجام شده است ولی مطالعات مقایسه ای در ارتباط با کیفیت این استخوان با استخوان هایی که توسط روش های دیگر ایجاد می شود اندک است. هدف از این مطالعه، مقایسه هیستولوژیک استخوان بازسازی شده در دو تکنیک دیسترکشن استخوانی و پیوند استخوانی اتوژنوس که جهت اگمنته کردن ریج استفاده شده است، بود.

مواد و روش ها

جهت انجام این مطالعه تعداد سه گوسفند در حال رشد با سن ۲۶ تا ۳۸ هفته انتخاب شده بودند.

پس از بیهوشی عمومی گوسفند، در ناحیه بی دندان در

فیروزه یا غضروف وجود نداشت.

اگرچه انقیلتراسیون سلول های آماسی مشاهده نگردید تعدادی از سلول های آماسی از جمله لنفوسیت ها به صورت تصادفی و کم دیده شد (تصویر ۱).

در ناحیه پیوند، ترابکول های استخوانی تازه شکل گرفته به صورت لاملار بیشتر مشاهده می شد که همراه با نواحی Resting و ریم استئوبلاستیک بود بافت فیروزه کمتر و فیبروبلاست ها به تعداد کمتر، با اندازه کوچکتر و غیرفعال تر مشاهده شدند. در این میان غضروف مشاهده نگردید (تصویر ۲-الف و ۲-ب).

آماس در این ناحیه بصورت مزمن متوسط و در بعضی نواحی شدید می باشد ریم استئوبلاستیک واضح نیست.

در ناحیه استئودیسترکشن بعد از هشت هفته ترکیبی از استخوان Woven و لاملار بالغ دیده شد که در استرومایی از الیاف کلاژن و عروق خونی (بافت فیبرو و اسکولار) وجود داشتند و کانال های عروق وسیعتر بود (تصویر ۳-الف و ب).

البته میزان استخوان بالغ کمتر از نوع Woven بود. در داخل استرومای فیبرو و اسکولار تعداد زیادی فیبروبلاست مشاهده شد که از نظر سایز بزرگ بودند. در بعضی نواحی ریم استئوبلاستیک نیز دیده می شد. در عین حال میزان سلول های آماسی کم بوده و در بعضی از قسمت ها در ناحیه دیسترکشن غضروف نیز وجود داشت (تصویر ۳-ج).

بحث

این مطالعه به منظور بررسی مقایسه هیستولوژیک بافت استخوانی ساخته شده در دو تکنیک کشش استخوانی و پیوند انجام شد.

وجود استخوان تازه تشکیل شده در دو روش نشان دهنده این است که هر دو تکنیک تا حدودی در افزایش عرض استخوان موثر می باشند. با توجه به اینکه در این استخوان عریض شده قرار است که ایمپلنت گذاشته شود بنابراین بخاطر داشتن ثبات اولیه ایمپلنت، در ناحیه دیسترکشن و یا پیوند، داشتن استخوان با کیفیت خوب نیز باید مورد نظر قرار گیرد.

یک طرف فک پایین فلپ Full-Partial داده شد که پس از قالبگیری از استخوان این ناحیه، ضخامت باکولینگوالی ریح در ناحیه قدیمی (تست) و خلفی (کنترل) با در نظر گرفتن یک نقطه قراردادی مرجع اندازه گیری شد. سپس در روش کشش استخوانی (DO) در این ناحیه انجام شد. پس از ۸ هفته دوره ثبات (Consolidation period) گوسفندها قربانی و تحت باز کردن مجدد محل قرار گرفتند. اندازه گیری ها نشان داد که عرض ریح در مقایسه با ناحیه کنترل افزایش یافته است. دو هفته پس از اولین جراحی، روش پیوند استخوان اتوژن در طرف مقابل فک گوسفند انجام شد. پس از هشت هفته گوسفندها قربانی شدند و باز کردن مجدد محل انجام شد و مشخص گردید که در مقایسه با کنترل افزایش عرض ریح بوجود آمده بود.^(۱۵)

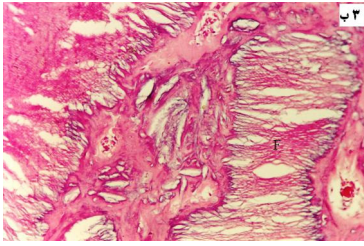
آماده سازی بافت جهت ارزیابی هیستولوژیک

بعد از ذبح حیوان، ناحیه دنتال پد از نواحی پیوند، استئودیسترکشن و ناحیه کنترل (استخوان سالم) از مندیبول جدا گردید و جهت آنالیز هیستولوژیک به قطعات کوچکتر تقسیم شد به نحوی که دنتال پد به سه قسمت شامل ناحیه مزیال، میانی و دیستال تقسیم گردید. سپس قطعاتی که به صورت ساژیتال بریده شدند به مدت یک هفته در محلول فرمالین ده درصد قرار گرفتند.

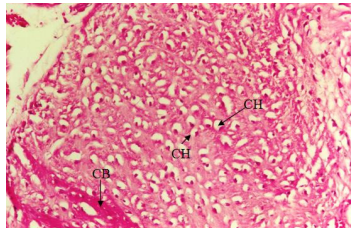
بدنبال فیکساسیون، نمونه ها توسط آب مقطر شستشو داده شدند و با محلول EDTA ۰/۵ m (PH 1.4) دکلسیفیه گردیدند. سپس نمونه های دکلسیفیه شده توسط اتانول، دهیدراته و در پارافین قرار گرفتند. قطعات مدفون شده در پارافین توسط دستگاه برش دهنده به لایه هایی به ضخامت ۵ میکرون بریده شد و به روی لام میکروسکوپی منتقل گردید و توسط رنگ آمیزی هماتوکسیلین-اوتوزین رنگ آمیزی شد. نمونه های رنگ آمیزی شده توسط دوربین اختصاصی میکروسکوپی عکسبرداری و سپس مورد بررسی هیستولوژیک قرار گرفتند.

یافته ها

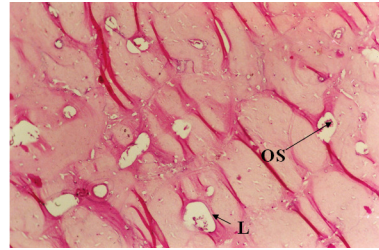
در ناحیه کنترل همانطور که انتظار می رفت تنها بافت استخوانی مشاهده و هیچگونه شواهدی مبنی بر وجود بافت



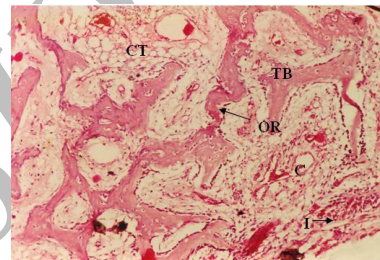
تصویر ۳-ب: نمای هیستولوژیک ناحیه دیسترکشن: استرومای الیاف کلاژن



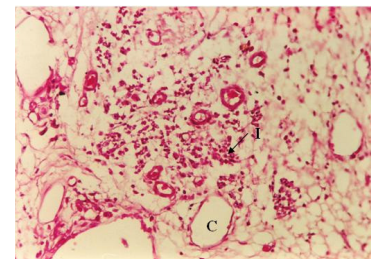
تصویر ۳-ج: نمای هیستولوژیک ناحیه دیسترکشن: سلول های غضروفی (CH) با استخوان کندروئید (CB)



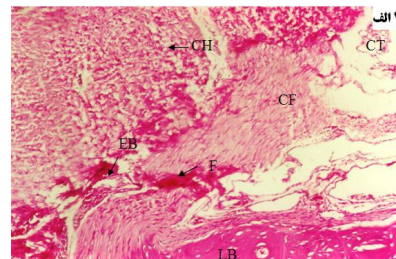
تصویر ۱: استخوان بالغ ناحیه کنترل با فضاهاى لاکونا (L) و استئوسیت (OS)



تصویر ۲-الف: تصویر هیستولوژیک استخوان ناحیه پیوند: استخوان تراپکولار (TB)، سلول های آماس مزمن (I)، کانال عروقی (C)، ریم استئوبلاستیک (OR)، بافت همبندی (CT)



تصویر ۲-ب: تصویر هیستولوژیک ناحیه پیوند با بزرگنمایی (۱۰۰): سلول های آماس به وضوح دیده می شود، سلول های آماس مزمن (I)، کانال عروقی (C)



تصویر ۳-الف: تصویر هیستولوژیک ناحیه دیسترکشن: استخوان تازه تشکیل شده بین بافت غضروفی مشاهده می شود: استخوان لاملار (LB)، الیاف کلاژن (CF)، سلول های دوکی شکل فیبروبلاست (F)، بافت همبندی (CT)، بافت غضروفی (CH)، استخوان کندروئید (CB)

بررسی نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که علیرغم ساخته شدن استخوان در هر دو ناحیه، تغییرات هیستولوژیک در استخوان تازه تشکیل شده بعد از هشت هفته وجود دارد که این تغییرات می تواند بر تصمیم جهت گذاردن ایمپلنت در نوع استخوان تاثیر بگذارد. بررسی تغییرات رژنراسیون در استخوان تازه تشکیل شده توسط محققین با استفاده از تکنیک‌هایی مختلف انجام شده است، از جمله استفاده از تکنیک رادیوگرافی،^(۱۶) اولتراسوند،^(۱۷) توموگرافی کامپیوتری،^(۱۸) میکروسکوپی نوری،^(۱۹،۲۰) و میکروسکوپ الکترونی.^(۲۱) که در مطالعه ما این بررسی توسط میکروسکوپ نوری انجام شده است. همانطور که در تصاویر هیستولوژیک این مطالعه مشاهده می شود در ناحیه دیسترکشن، فیبروبلاست‌های زیاد با اندازه بزرگ وجود دارد که نشان‌دهنده بافت همبندی فعال می باشد. آنچه که می تواند در مسئله استخوان سازی مفید باشد تبدیل شدن این سلول ها به استئوبلاست ها است که به نوبه خود استخوان سازی را بیشتر می کند در حالیکه این موضوع در ناحیه پیوند کمتر دیده شد. مشابه با این یافته در مطالعات دیگر نیز مشاهده می گردد. Karaharju و همکارانش در بررسی تشکیل استخوان بوسیله دیسترکشن مطالعه ای را روی گوسفند انجام دادند و در بررسی هیستولوژیک وجود فیبروبلاست های زیاد که باعث ایجاد ماتریکس کلاژنوس شده بود را مشاهده نمودند.^(۲۱)

اختلال در واسکولاریزاسیون شده و باعث کم شدن ترمیم استخوان و به تاخیر افتادن آن می شود که این خود می تواند باعث تشکیل غضروف در ناحیه شود. همچنین غضروف می تواند به علت کاهش اکسیژن در طی دیسترکشن ایجاد شود.^(۲۶) بعلاوه حرارت ناشی از وسایل استئوتومی نیز باعث نکروز و ایجاد غضروف می شود.^(۲۷)

در تصویر هیستولوژیک پیوند اتوزنوس، آنچه که به مقادیر زیاد مشاهده می شود وجود سلول های آماسی است. این سلول ها به دو طریق می توانند بر رشد و تشکیل استخوان اثر بگذارند: اولاً التهاب با تاثیر بر متابولیسم هورمونی، مواد معدنی و تغذیه ای بر رشد استخوانی اثر می گذارد و ثانیاً واسطه های شیمیایی آماس سبب تغییرات موضعی در سلول ها می شود که به نوبه خود در تشکیل استخوان در پروسه اندوکندریال و رشد اپوزیشنال تاثیر می گذارد. مهمترین تاثیر التهاب بر رشد استخوان مربوط به پاسخ فاز حاد آن است که در طی آن سایتوکاین ها همچون اینترلوکین یک بتا تولید شده و باعث فعال شدن استئوکلاست ها و تحلیل استخوان بجای تشکیل آن می شود.^(۲۸)

نتیجه گیری

آنچه در مقایسه تصاویر هیستولوژیک استخوان ساخته شده در دو ناحیه دیسترکشن و پیوند می توان نتیجه گرفت این است که علیرغم وجود مزایای همچون داشتن سلول های استئولوژیک و فاکتورهای مختلف رشد استخوانی همچون BMP (Bone Morphogenic Protein) که برای پیوند اتوزنوس مترتب است ولی داشتن مشکلات تکنیکی برداشتن پیوند و وجود تحلیل استخوان در دوره ترمیم و داشتن تصویر هیستولوژیک ضعیف در مقایسه با دیسترکشن و در عین حال کم بودن دوره ترمیم استخوان در دیسترکشن قبل از جاگذاری ایمپلنت، استئوژنزیس دیسترکشن می تواند بعنوان یک تکنیک مناسب جایگزین خوبی برای پیوند جهت افزایش ضخامت استخوانی در مواردیکه کاربرد دارد، شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه که حمایت مالی این تحقیق را به عهده داشته اند، قدردانی می گردد.

Peltonen وجود فیروبلاست را در نواحی دیسترکشن گزارش نمود و عنوان کرد استئوژنزیس در این ناحیه با شروع ماتریکس کلاژن ارگانیزه شده آغاز می شود.^(۲۲) Reddi در ارتباط با قابلیت تبدیل فیروبلاست ها به استئوبلاست ها بیان کرد که فیروبلاست ها دارای این توانایی هستند و این قابلیت تبدیل شدن هنگامی محقق می شود که فیروبلاست ها در تماس با ماتریکس استخوانی قرار گیرند و در نتیجه ابشاری از اثرات بیولوژیک ایجاد می شود. البته آنان دریافتند فاکتورهای فیزیکی بر این قابلیت تبدیل شدن، موثر است که از جمله آن می توان ژنومتری ماتریکس استخوان، شارژ الکتریکی سطح آن و قابلیت دسترسی به استخوان را نام برد.^(۲۳)

از نکات قابل تمایز در دو نمونه، وجود مقادیر متعدد ریم استئوبلاستیک در نمونه هیستولوژیک پیوند است که وجود این ریم، تشکیل استئوئید بیشتری را نشان می دهد.

از دیگر یافته های این مطالعه وجود سلول های غضروف در بین استخوان های تازه تشکیل شده ناحیه دیسترکشن می باشد. این سلول ها می توانند از طریق استخوان سازی داخل غضروفی تبدیل به استخوان شود. بطوریکه سلول های پری کندریال می تواند در قسمت داخلی تبدیل به استئوبلاست ها بجای کندروبلاست ها شود و استئوبلاست ها باعث سنتز استئوئید شده که این به نوبه خود باعث ایجاد حلقه استخوانی در اطراف غضروف می شود. با تشکیل این حلقه استخوانی سلول های غضروف زیرین شروع به هیپرتروفی شدن می کنند و سپس الکان فسفاتاز ترشح می شود که این باعث کلسیفیه شدن ماتریکس غضروفی می شود و در نتیجه از نفوذ مواد مغذی جلوگیری شده و کندروسیت ها از بین می روند.^(۲۴) البته استخوان سازی در ناحیه دیسترکشن بیشتر به طریقه اینتراممبرانوس است. بدین لحاظ تعیین اینکه این غضروف بخشی از مسیر تشکیل استخوان اندوکندریال است یا وابسته به علل محیطی، کار مشکل می باشد. اما دلایل که در این زمینه مطرح است تغییرات مکانیکال و بیولوژیک است که نه تنها بر تمایز استئوبلاست ها و کندروسیت ها موثر است بلکه بر پرولیفراسیون عروقی نیز تاثیر می گذارد.^(۲۵) بطوریکه عدم ثبات دستگاه دیسترکشن و میزان دیسترکشن زیاد باعث

منابع

1. Weber HP, Crohin CC, Fiorellini JP. A 5-year prospective clinical and radiographic study of non-submerged dental Implant. *Clin Oral Implants Res* 2000; 11(2): 144-53.
2. Leonhar dt A, Grondahl K, Bergstrom C, Lekholm U. Long-term follow up study of osseointegrated titanium implants using clinical, radiographic and microbiological parameters. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13(2): 127-32.
3. Bell RB, Blakey GH, White RP, Hillebrand DG, Molina A. Staged reconstruction of the severely atrophic mandible with autogenous bone graft and endosteal implants. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60(10): 1135-41.
4. Chiapasco M, Gatti C, Gatti F. Immediate loading of dental implants placed in severely resorbed edentulous mandibles reconstructed with autogenous clavial grafts. *Clin Oral Implants Res* 2007; 18(1): 13-20.
5. Jemt T, Lekholm U. Measurements of buccal tissue volumes at single-implant restorations after local bone grafting in maxillas: a 3-year clinical prospective study case series. *Clin Implant Dent Relat Res* 2003; 5(2): 63-70.
6. Simion M, Trisi P, Piattelli A. Vertical ridge augmentation using a membrane technique associated with osseointegrated implants. *Int J of Periodontics Restorative Dent* 1994; 14(6): 497-511.
7. Simion M, Jovanovic S, Tinti C, Bentenati SP. Long-term evaluation of osseointegrated implant inserted at time or after vertical ridge augmentation: A retrospective study on 123 implants with 1-5 year up. *Clin Oral Implants Res* 2001; 12(1): 35-45.
8. Gaggl A, Schultes G, Karcher H. Vertical alveolar ridge distraction with prosthetic treatable distractors: A clinical investigation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000; 15(5): 701-10.
9. Raghoebar GM, Heydenrijk K, Vissink A. Vertical distraction the severely resorbed mandible. The Groningen distraction device. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2000; 29(6): 416-20.
10. Jensen OT, Cockrell R, Kuhike L, Reed C. Anterior maxillary alveolar distraction osteogenesis: A prospective 5-year clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002; 17(1): 52-68.
11. Chiapasco M, Zaniboni M, Rimondini L. Autogenous onlay bone grafts vs alveolar distraction osteogenesis for the correction of vertically deficient edentulous ridges: A 2-4 year prospective study on human. *Clin Oral Implants Res* 2007; 18(4): 432-40.
12. Chiapasco M, Consolo U, Bianchi A, Ronchi P, Alveolar distraction osteogenesis for the correction of vertically deficient edentulous ridges: A multicenter prospective study on humans. *J Oral Maxillofac Implants Int* 2004; 19(3): 399-407.
13. Chiapasco M, Romeo E, Casentini P, Rimondini L. Alveolar distraction osteogenesis VS. Vertical guided bone regeneration for the correction of vertically deficient edentulous ridges. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004; 15(1): 82-95.
14. Hodges NE, Perry M, Mohamed W, Hallman WW, Rees T. Distraction osteogenesis versus autogenous onlay grafting part II: Biology of regenerate and onlay bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2006; 21(2): 237-244.
15. Rahmani ME, Sargolzaee N, Sedighi MR. A pilot study of ridge augmentation using the osteodistraction technique and interpositional bone graft method in sheep. *J Mash Dent Sch* 2007; 31(Special Issue): 12-6.
16. Cope JB, Samchukov ML, Cherkashin AM, Wolford LM, Franco P. Biomechanics of mandibular distractor orientation: An animal model analysis. *J Oral Maxillofac Surg* 1999; 57(9): 952-64.
17. Eyres KS, Bell MJ, Kanis JA. Methods of assessing new bone formation during limb lengthening. Ultrasonography, dualenergy x-ray absorptiometry and radiography compared. *J Bone Joint Surg Br* 1993; 75(3): 358-64.
18. Smith SW, Sachdeva RC, Cope JB. Evaluation of the consolidation period during osteodistraction using computed tomography. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1999; 116(3): 254-63.
19. Cope JB, Harper RP, Samchukov ML. Experimental tooth movement through regenerate alveolar bone. A pilot study. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1999; 116(5): 501-5.
20. Michieli S, Miotti B. Lengthening of mandibular body by gradual surgical-orthodontic distraction. *J Oral Surg* 1977; 35(3): 187-92.
21. Karaharju EO, Aalto K, Kahri A, Lindberg LA, Kallio T, Karaharju-suvanto T, et al. Distraction bone healing. *Clin Orthop Relate Res* 1993; 297: 38-43.
22. Peltonen JI, Kahri AI, Lindberg LA, Heikkila PS, Karaharju EO, Aalto KA. Bone formation after distraction osteotomy of the radius in sheep. *Acta Orthop Scand* 1992; 63(6): 599-603.
23. Reddi AH, Huggins CD. Formation of bone marrow in fibroblast-transformator ossicles. *Proc Nat Acad.* 1975; 72(6): 2212-6.
24. Aronson J, Good B, Stewart C, Harrison B, Harp J. Preliminary studies of mineralization during distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relate Res* 1990; 250: 43-9.
25. Li G, Viridi AS, Ashhurst DE, Simpson AH. Tissues formed during distraction osteogenesis in the rabbit are determined by the distraction rate. *Cell Biol Int* 2000; 24(1): 25-33.
26. Carter DR, Beaupre GS, Giori NJ, Helms JA. Mechanobiology of skeletal regeneration. *Clin Orthop Relate Res* 1998; 355: 41-55.
27. Aronson J, Gao GG, Shen XC, Mc Laren SG. The effect of aging on distraction osteogenesis in the rat. *J Orthop Res* 2001; 19(3): 421-7.
28. Aronson J. Temporal and spatial increases in blood flow during distraction osteogenesis. *Cleft Palate Craniofac J.* 1994; 131(11): 473-81.