

Un modello di meccano-regolazione per indagare come il periodo di latenza in una distrazione osteogenetica mandibolare varia al variare dell'età del soggetto

Antonio Boccaccio¹, Carmine Pappalettere¹

¹*Dipartimento di Ingegneria Meccanica e Gestionale, Politecnico di Bari, Italy*
E-mail: a.boccaccio@poliba.it, c.pappalettere@poliba.it

Parole Chiave: Distrazione Osteogenetica Mandibolare, Periodo di Latenza, Invecchiamento, Stimolo Biofisico, Meccano-biologia.

SOMMARIO. La Distrazione Osteogenetica Mandibolare Sinfisaria è una procedura clinica comunemente usata in Ortodonzia in soggetti con problemi di sovraffollamento dentale sull'arcata mandibolare. Un punto di cruciale importanza per la DOMS è la valutazione della durata ottimale del periodo di latenza, cioè l'intervallo di tempo compreso tra il giorno in cui è eseguita l'osteotomia mandibolare e il giorno in cui si applica la prima apertura del device di distrazione. Un periodo di latenza troppo breve potrebbe portare ad una unione fibrosa o a una non-unione. D'altra parte, un periodo di latenza troppo lungo potrebbe portare ad una prematura unione dei bordi della osteotomia. Il periodo di latenza è una funzione dell'età del paziente. Si è sviluppato un modello computazionale di meccano-regolazione per valutare la durata ottimale del periodo di latenza in tre diverse situazioni: un paziente giovane, uno adulto ed uno anziano. Il modello è implementato in ambiente FORTRAN e studia il processo di differenziazione dei tessuti nel callo osseo formatosi in corrispondenza della sutura sinfisaria. Il callo è modellato come un materiale bifasico poro-elastico. Si è ipotizzato che lo stimolo biofisico che regola il processo di rimodellamento osseo sia una funzione della deformazione ottaedrale di taglio e della velocità del flusso interstiziale. Lo stimolo biofisico è calcolato a mezzo di un modello tridimensionale agli elementi finiti di una mandibola osteotomizzata e strumentata con un tooth-borne device. Il modello predice che la durata ottimale del periodo di latenza per evitare il rischio di una prematura unione ossea è di circa 5÷6 giorni per il soggetto giovane, 7÷8 giorni per il soggetto adulto, 9÷10 giorni per il soggetto anziano.

1 INTRODUZIONE

I problemi di sovraffollamento dentale sull'arcata mandibolare sono usualmente risolti mediante estrazione di denti o procedure di espansione. Tuttavia tali metodologie cliniche risultano instabili e risolvono solo temporaneamente il problema [28]. Al contrario, la Distrazione Osteogenetica Mandibolare Sinfisaria (DOMS) risolve in modo definitivo siffatte patologie. Lo stato di stress agente sul callo osseo generatosi nella regione osteotomizzata facilita la ricrescita ossea nella direzione delle forze di distrazione applicate [14]. La DOMS si basa sulla "law of tension-stress" proposta da Ilizarov [21] la quale stabilisce che la progressiva trazione di tessuti vivi crea stati di stress che inducono crescita e proliferazione del tessuto stesso.

Numerosi studi clinici riportano i promettenti risultati ottenuti da pazienti trattati con DOMS

[18,34,19,15,34]. In altri studi si è analizzata la biomeccanica della distrazione osteogenetica [4,6-7]. Clinicamente, la DOMS si suddivide in quattro differenti fasi: (i) dapprima la mandibola è osteotomizzata in corrispondenza delle suture sinfisarie e un dispositivo distrattore è applicato su di essa (Fig. 1a); (ii) segue, quindi, un periodo detto di latenza di sette-dieci giorni durante il quale si forma il callo osseo nella regione osteotomizzata; (iii) dopo il periodo di latenza il dispositivo distrattore è progressivamente aperto con una ben nota velocità di espansione per un periodo detto di distrazione di sette-dieci giorni; (iv) infine, segue un periodo di maturazione durante il quale ogni movimento del device distrattore viene bloccato ed il callo osseo può maturare e subire un processo di calcificazione. La durata del periodo di latenza ha un effetto notevole sulla buona riuscita della procedura clinica. Se il periodo di latenza è troppo corto, si verifica la formazione di un callo osseo debole e insufficiente e se non c'è un buon callo possono sorgere complicazioni come una unione fibrosa o una non unione [13]. Al contrario, un periodo di latenza troppo lungo potrebbe aumentare il rischio di una prematura unione dei bordi della osteotomia [22], ostacolando, di fatto il successivo processo di espansione. Appare chiaro che la durata del periodo di latenza dipende strettamente dalla età del soggetto sottoposto a DOMS [13]. Nei pazienti giovani, il processo accelerato di guarigione consente di adottare protocolli clinici con un più breve periodo di latenza. Nel caso di pazienti anziani, poiché il processo di guarigione è più lento, è richiesto un periodo di latenza più lungo. Aronson [2], sottoponendo a distrazione osteogenetica un arto di diversi pazienti ha trovato una velocità di formazione di osso di 213 $\mu\text{m}/\text{die}$ nei pazienti adulti e di 385 $\mu\text{m}/\text{die}$ nei bambini. Aronson *et al.* [3], a mezzo di un modello di ratto, hanno studiato l'effetto dell'invecchiamento sulla formazione di osso durante la distrazione osteogenetica. A mezzo di tecniche istologiche, hanno trovato che più alte percentuali di osso mineralizzato si formano nei ratti più giovani.

Numerosi modelli numerici sono stati finora proposti che mettono in correlazione il processo di differenziazione dei tessuti con il campo di stress meccanico [10,12,17,30]. Il modello di mecano-regolazione proposto da Prendergast *et al.* [31] assume che il callo osseo si comporti come un materiale bifasico poroelastico. Lo stimolo biofisico che regola il processo di differenziazione di tessuti è una funzione della deformazione ottaedrale di taglio nonché della velocità di fluido interstiziale. Il modello ha predetto con successo il pattern di differenziazione dei tessuti prodotto durante la guarigione di una frattura [24], all'interfaccia osso/impianto [1,20] e durante la guarigione di difetti endocondrali [23]. Nonostante l'ampio numero di studi condotti sugli effetti dell'invecchiamento sul processo di formazione ossea, modelli numerici simulanti i processi di guarigione di una frattura in pazienti con diverse età non sono ancora disponibili in letteratura. Obiettivo del presente lavoro è sviluppare un modello di mecano-regolazione che sia in grado di predire i patterns di differenziazione dei tessuti che si producono –durante il periodo di latenza- nella regione osteotomizzata della mandibola di pazienti con differenti età. Il modello sarà utilizzato per calcolare la durata ottimale del periodo di latenza. Tre casi sono considerati: un paziente giovane, uno adulto ed uno anziano. Si sono considerati due regimi di carico di masticazione: un carico “full” ed uno ridotto (del 70 %). Infine, è stata calcolata la forza necessaria per distrarre il callo dopo il periodo di latenza.

2 MATERIALI E METODI

2.1 Il modello di mecano-regolazione

La diffusione delle cellule mesenchimali staminali (CMSs) attraverso il callo di frattura può essere descritto dalla seguente equazione di diffusione [24]:

$$\frac{dn}{dt} = D\nabla^2 n \quad (1)$$

dove n rappresenta il numero di cellule e D è il coefficiente di diffusione. Il coefficiente di diffusione D è ipotizzato essere una funzione dell'età del paziente in accordo agli studi condotti da Chen *et al.* [11], Baxter *et al.* [5], Mendes *et al.* [27] Park *et al.* [29]. Siano t_{elder} , t_{adult} e t_{young} i periodi di tempo necessari alle CMSs per ricoprire completamente il dominio del callo osseo rispettivamente per il paziente anziano, per l'adulto e per quello giovane. Il coefficiente di diffusione D per le diverse età di paziente, è stato settato in modo che: $t_{elder}/t_{young}=3$ e $t_{adult}/t_{young}=2$. Tale assunzione è stata fatta sulla base dei risultati riportati da Chen *et al.* [11] che hanno osservato la proliferazione di CMSs in una cultura *in vitro* a differenti intervalli di tempo per pazienti con diverse età. Diffondendo le cellule mesenchimali dal midollo osseo attraverso il callo, esse cominciano a differenziarsi in differenti fenotipi a seconda del valore assunto dallo stimolo biofisico S . Se γ è la deformazione ottaedrale di taglio e se v è la velocità relativa fluido/solido, lo stimolo S è definito come:

$$S = \frac{\gamma}{a} + \frac{v}{b} \quad (2)$$

essendo a e b costanti empiriche [20] settate pari a $a=3.75\%$ e $b=3\mu\text{ms}^{-1}$. In base al valore assunto da S , ogni fenotipo cambia così che:

$$\text{se } \begin{cases} S > m \Rightarrow \text{fibroblast } i: \text{ tessuto fibroso} \\ 1 < S < m \Rightarrow \text{condrociti} : \text{ cartilagin e} \\ q_{mature} < S < 1 \Rightarrow \text{osteoblast } i: \text{ osso immaturo} \\ q_{resorbition} < S < q_{mature} \Rightarrow \text{osteoblast } i: \text{ osso maturo} \\ 0 < S < q_{resorbition} \Rightarrow \text{osteoclast } i: \text{ riassorbim ento osseo} \end{cases} \quad (3)$$

dove n_{mature} , n_{resorb} e m rappresentano i limiti del diagramma di meccano-regolazione [24].

Per descrivere correttamente l'evoluzione nel tempo del processo di guarigione nella regione osteotomizzata, si assume che il modulo di Young vari esponenzialmente nel tempo [8]. L'equazione che descrive tale variazione è del tipo:

$$E_i = K_i e^{\gamma_i t} \quad (4)$$

dove E_i rappresenta il modulo di Young per il fenotipo i (essendo i tessuto fibroso, oppure cartilagine oppure osso immaturo o maturo), t è il tempo e K_i e γ_i sono due parametri che regolano la forma della curva esponenziale. I valori di K_i e γ_i sono stati settati cosicché il modulo di Young del fenotipo i aumenti, in 75 giorni per il soggetto adulto in 60 per quello giovane e in 90 per quello anziano, dall'iniziale valore di 0.2 MPa tipico del tessuto di granulazione, al valore finale riportato in tabella 1.

Tabella 1: Proprietà meccaniche utilizzate nelle analisi agli elementi finiti

Materiale	E [MPa]
Tessuto fibroso	2
Cartilagine	10
Osso immaturo	1000
Osso maturo	6000

L'algoritmo quindi calcola le proprietà meccaniche per ogni elemento sulla base della legge esponenziale ed una semplice regola di miscele.

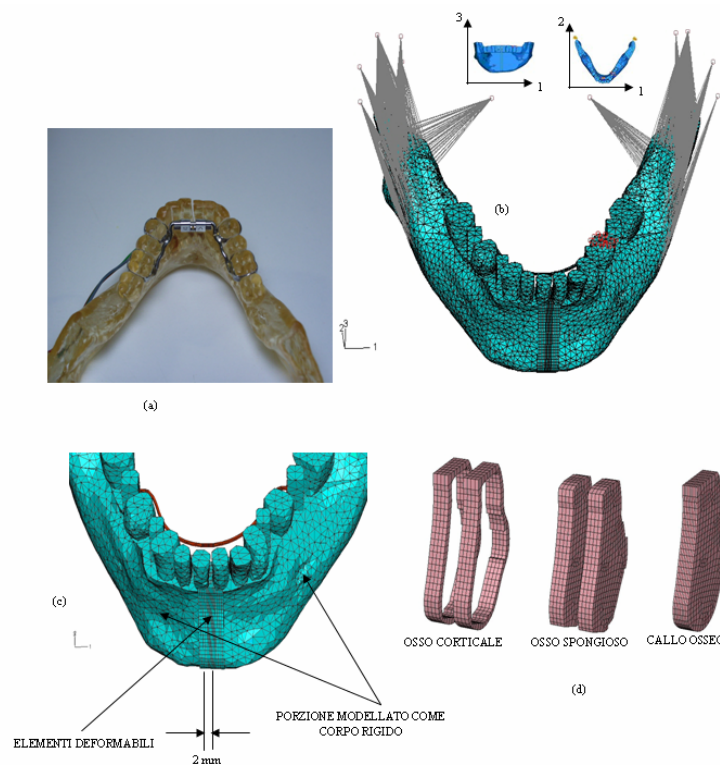


Figura 1.(a) Modello epossidico della mandibola osteotomizzata realizzato con macchina stereolitografica; (b) Modello FEM di mandibola analizzato; (c) Dettagli delle diverse porzioni di modello; d: Dettagli della porzione della mandibola modellata con elementi solidi deformabili.

2.2 Il modello agli elementi finiti

Il modello 3D della mandibola umana (di cui si è realizzato un modello stereolitografico in resina epossidica (Fig. 1a)) è stato ricostruito a partire da dati TAC. Il modello comprende anche un tooth-borne device. Poiché la rigidità dell'osso mandibolare è ordini di grandezza più grande di quella del callo, si è modellato la porzione di osso e di device lontane dalla zona ostentomizzata come un corpo rigido. Al contrario, la porzione di osso, di callo e di device vicine al piano medio sagittale sono state modellate con elementi tridimensionali deformabili. Il modello consta di circa 12000 elementi triangolari indeformabili e 5500 elementi esaedrici che modellano la regione osteotomizzata e la porzione del distrattore deformabile (Fig. 1b). Si è generato un gap di frattura

spesso 2 mm (Fig. 1c).

Il callo e l'osso adiacente (Fig. 1d) che costituiscono la porzione di mandibola vicina al piano medio sagittale sono stati modellati come materiali bifasici poroelastici. Seguendo [33], l'osso corticale è stato modellato come un materiale ortotropo.

Il modello FEM è soggetto a tre tipi di condizioni al contorno agenti contemporaneamente (Fig. 1b). La condizione al contorno CC1 simula l'articolazione temporo-mandibolare. I condili sono rappresentati da due reference points localizzati in corrispondenza delle articolazioni. Tali reference points sono connessi alla mandibola tramite vincoli di tipo coupling. Il comportamento del disco articolare è modellato connettendo tali reference points a punti fissi, a mezzo di spring elements allineati agli assi del sistema di riferimento. In tal modo la mandibola può ruotare intorno all'asse delimitato dai reference point e può traslare secondo le direzioni x, y e z. La condizione al contorno CC2 modella la masticazione. Si è simulata l'azione dei 6 più importanti muscoli coinvolti in fase di masticazione, i masseteri, i temporali, ed i pterigoidei. Due diversi casi sono considerati: il caso di una forza di masticazione "full" (le intensità e le direzioni dei carichi sono desunti da Faulkner *et al.* [16]) ed il caso di un carico di masticazione ridotto del 70 %. La condizione al contorno CC3 simula l'occlusione unilaterale su un dente del ramo mandibolare destro. L'occlusione è modellata vincolando lungo l'asse verticale 3 il secondo premolare.

Si è indagato un periodo di latenza di 12 giorni. Poiché ogni iterazione copre un periodo di 4.8 ore, sono state lanciate un totale di 60 iterazioni. Una routine in Fortran 90 è interfacciata al codice agli elementi finiti, uno schema dell'algoritmo è illustrato in Fig. 2.

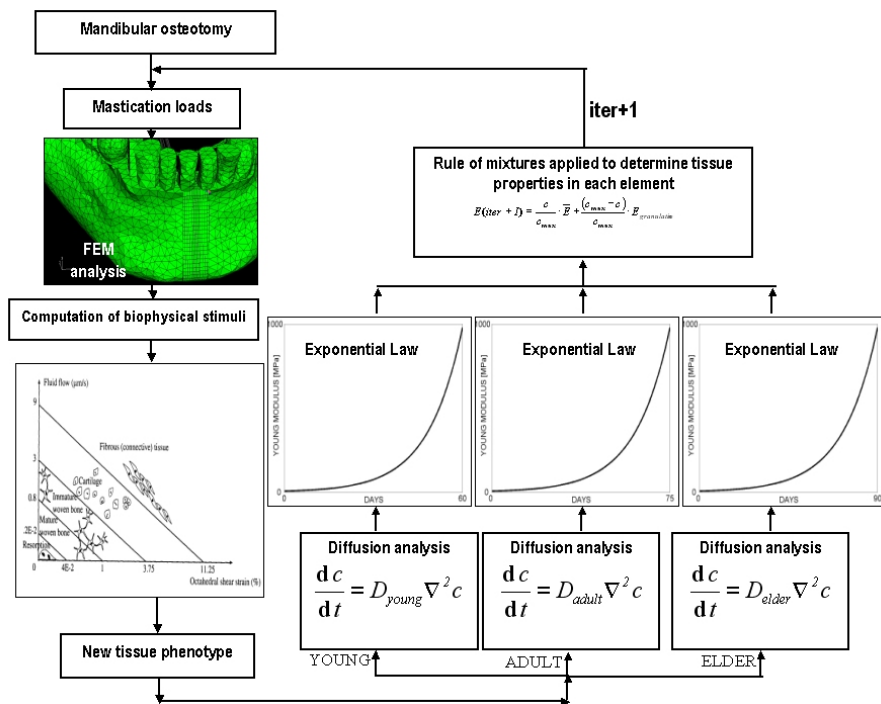


Figura 2. Schema del modello di mecano-regolazione implementato.

3 RISULTATI

Il modello ha predetto il pattern di differenziazione dei tessuti che si sviluppa nella sezione centrale del callo di frattura per il paziente giovane, adulto e anziano nel caso di carico di masticazione “full” (Fig. 3) oppure ridotto (Fig. 4). Nel primo caso, si generano percentuali molto basse di cellule progenitrici che si differenziano in osteoblasti, nei primi sei giorni dopo l’osteotomia. Solo dopo il settimo-ottavo giorno la quantità di queste cellule comincia ad aumentare in modo significativo e, in particolare, le percentuali più alte sono predette per il paziente giovane. La quantità di cellule che si differenziano in condrociti durante l’intero periodo di latenza (Fig. 3) risulta essere significativo. Nel caso di carico di masticazione ridotto del 70%, le cellule progenitrici che si differenziano in condrociti diventano significativamente meno numerose mentre quelle che si differenziano in osteoblasti aumentano (Fig. 4). Il modello predice che la percentuale di cellule che si differenziano in osteoblasti è funzione dell’età del paziente anche nel caso di carico ridotto. Nel caso di carico di masticazione “full” avviene una ossificazione di tipo endocondrale e intramembranoso. Nel caso di carico ridotto, l’ossificazione che avviene è di tipo intramembranoso. La percentuale di cellule che si differenziano in osteoblasti sembra essere più sensibile al carico di masticazione piuttosto che all’età del paziente (Fig. 5). Infatti, per un dato carico di masticazione e, a parità di tempo (giorni dopo l’osteotomia), la concentrazione di osteoblasti varia dell’8-9% al variare dell’età del paziente. Al contrario, a parità di età del paziente e di tempo, la percentuale di osteoblasti aumenta mediamente del 13-14% quando si passa da un carico di masticazione “full” ad uno ridotto. Differenti fasi del processo di guarigione sono illustrate in Fig. 6 –7 che mostrano il processo di formazione di nuovo osso nel piano frontale 1-3. Nel caso di carico ridotto, ponti ossei si formano tra il lato destro e sinistro del callo osseo dopo 5, 7 e 9 giorni rispettivamente per il paziente giovane, adulto e anziano. Nel caso di carico di masticazione full, la formazione di ponti ossei avviene dopo 5, 8 e 9 giorni dopo l’osteotomia per il paziente giovane, adulto e anziano rispettivamente. Infine, sono stati calcolati i valori di forza necessari per distrarre il callo di 0.5 mm (Fig. 8). Per il paziente giovane si è ipotizzato (ai fini del calcolo della forza) un periodo di latenza di 5 giorni, per l’adulto di 7 e per l’anziano di 9 giorni.

4 DISCUSSIONE

Obiettivo del presente lavoro è condurre una analisi computazionale mecano-biologica per valutare gli effetti dell’invecchiamento sul periodo di latenza in una distrazione mandibolare.

Si sono fatte numerose assunzioni. Per esempio si è modellata la articolazione temporo-mandibolare con spring elements e vincoli di tipo coupling. In realtà, la meccanica di questa articolazione è molto più complessa [9]. Inoltre, i limiti usati per lo stimolo biofisico S devono ancora essere validati sperimentalmente. Tuttavia essi sono gli stessi adottati in precedenti lavori [6,7].

Le analisi agli elementi finiti mostrano che la durata ottimale del periodo di latenza è di 5÷6 giorni per il paziente giovane, di 7÷8 e 9÷10 per il paziente adulto e anziano rispettivamente. Tali durate sembrano in accordo con quanto riportato in letteratura. Conley and Legan [13] suggeriscono un periodo di latenza di sette giorni. Mattik *et al.* [26] riportano tre casi clinici di pazienti giovani (18, 19 e 28 anni) per i quali è stato adottato un periodo di latenza di 5 giorni. Lazar *et al.* [25] hanno sottoposto un anziano di 62 anni ad una distrazione mandibolare. La prima distrazione è stata condotta dopo un periodo di latenza di 10 giorni. Infine, i risultati mostrano che la forza di distrazione richiesta per eseguire una distrazione di 0.5 mm è dello stesso ordine di grandezza di quella misurata in vivo da Robinson *et al.* [32].

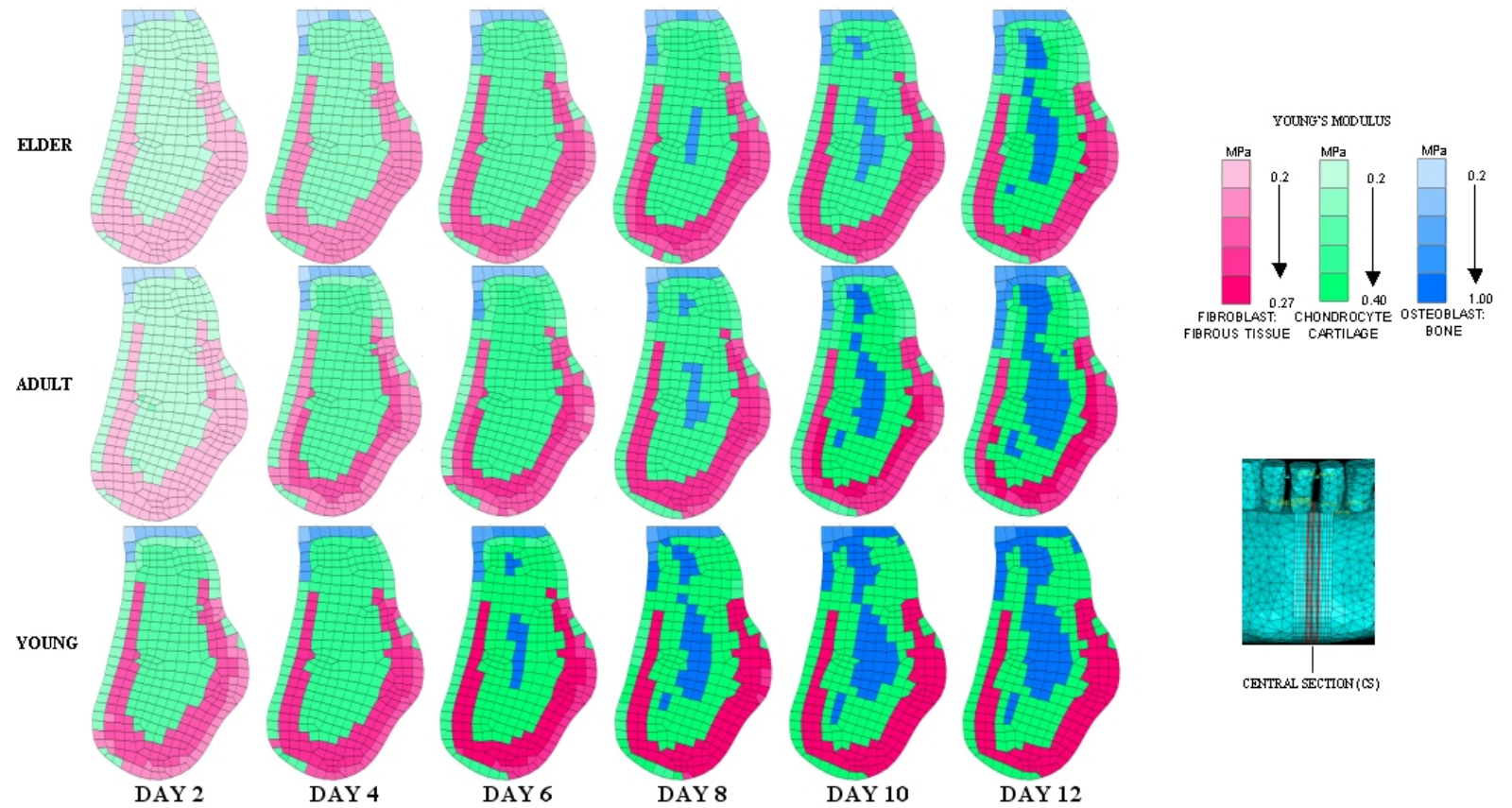


Figura 3. Patterns di differenziazione di tessuti predette dal modello di mecano-regolazione nel caso di masticazione “full”.

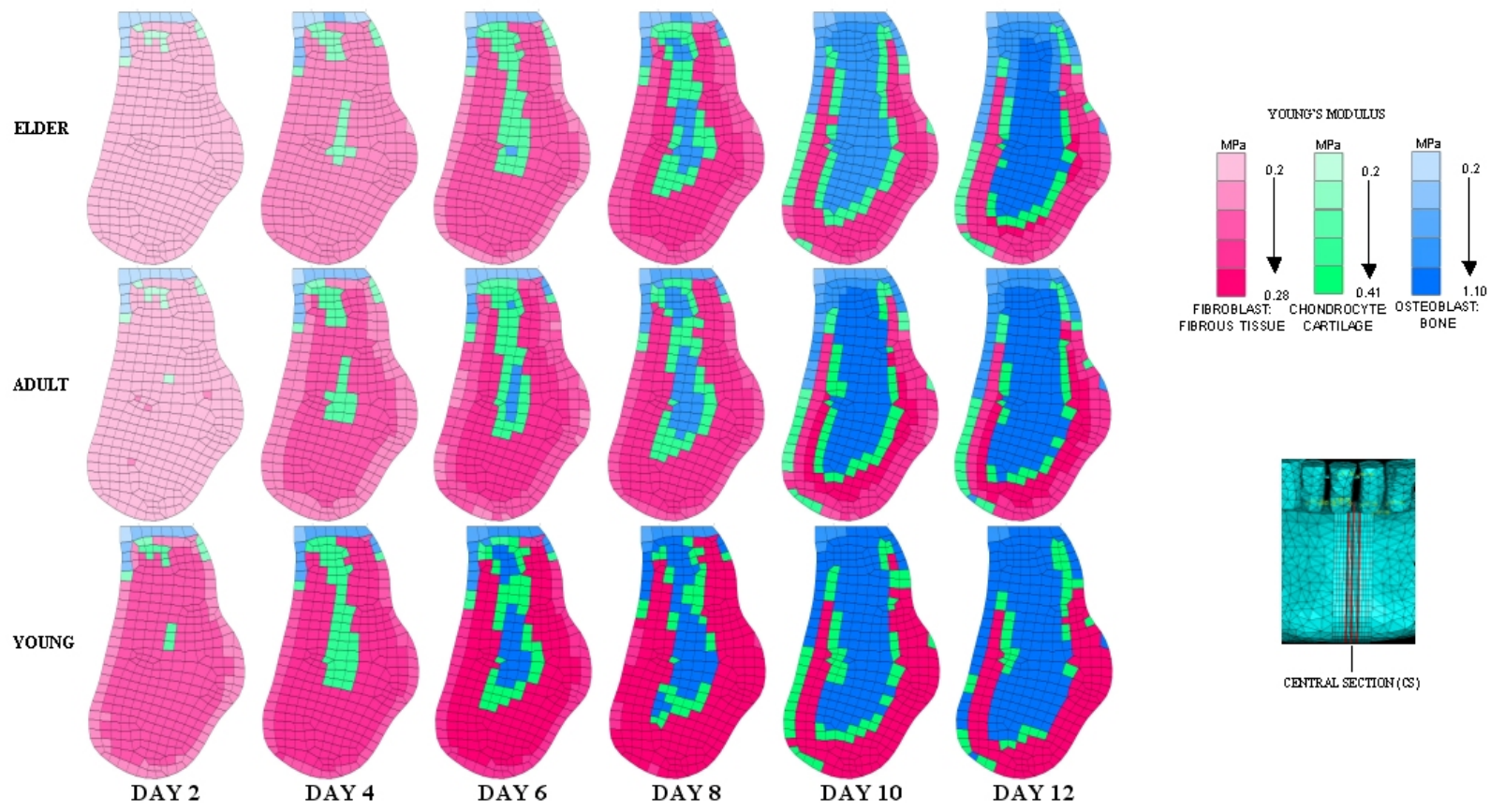


Figura 4. Patterns di differenziazione di tessuti predette dal modello di mecano-regolazione nel caso di masticazione ridotto conclusions

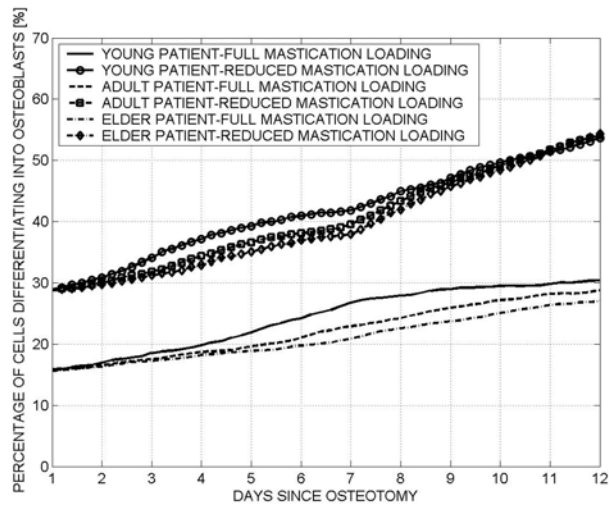


Figura 5. Percentuali di cellule progenitrici che si differenziano in osteoblasti per diversi carichi di masticazione e per diverse età di paziente.

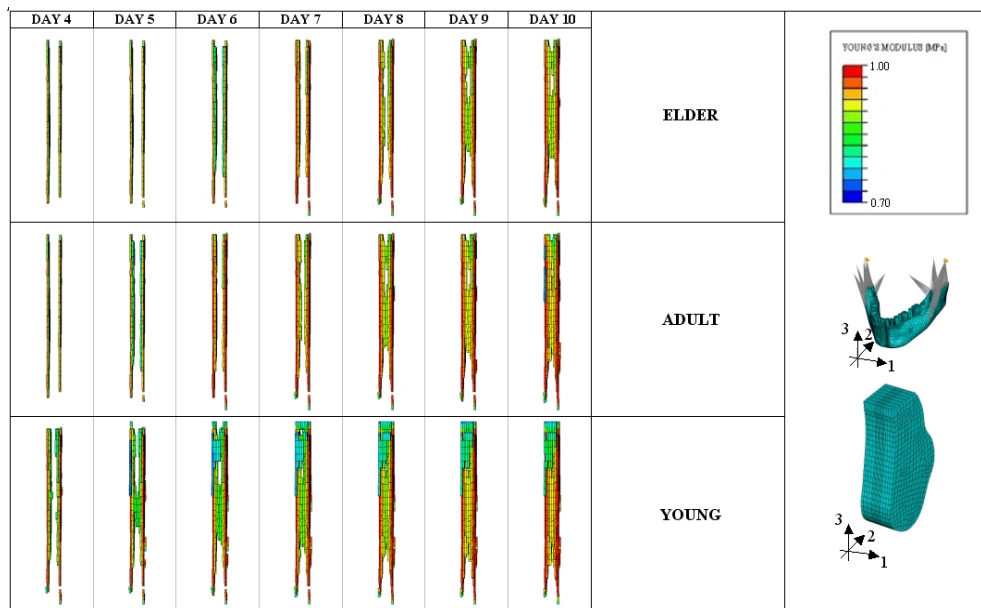


Figura 6. Processo di formazione di nuovo osso per il caso di carico di masticazione “full”.

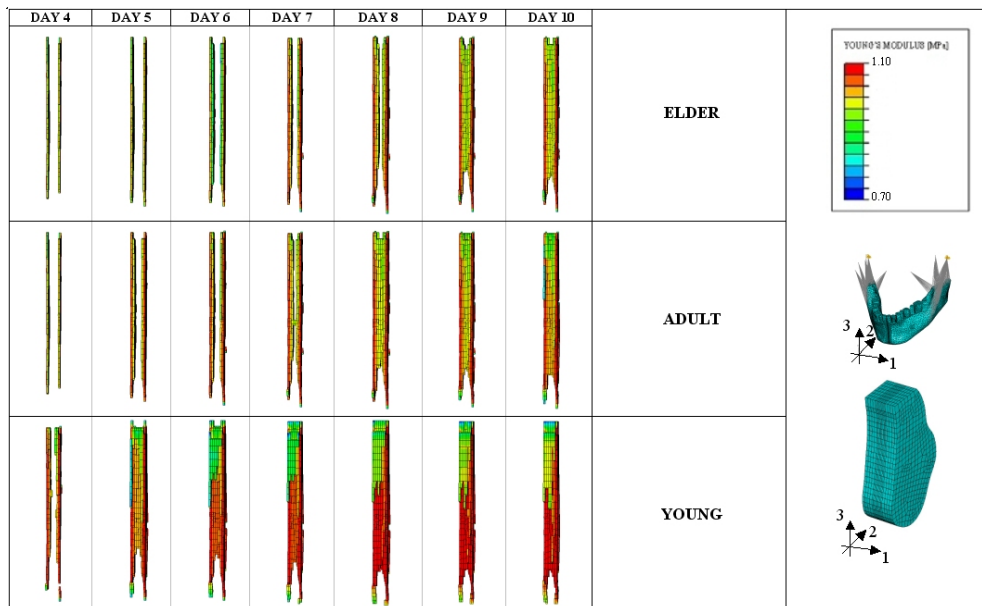


Figura 7. Processo di formazione di nuovo osso per il caso di carico di masticazione ridotto.

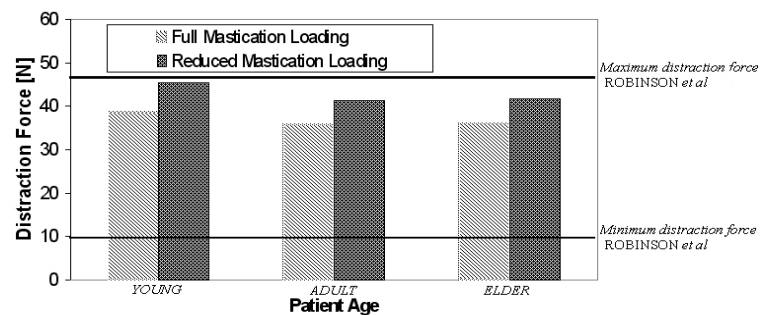


Figura 8. Confronto tra i valori di forza di distrazione predetti dal modello numerico e quelli misurati *in vivo* da Robinson *et al.* [32].

Bibliografia

- [1] Andreykiv, A., Prendergast, P.J., van Keulen, F., Swieszkowski, W., Rozing, P.M. "Bone ingrowth simulation for a concept glenoid component design" *Journal of Biomechanics* **38**: 1023-1033 (2005).
- [2] Aronson, J., "Experimental and clinical experience with distraction osteogenesis" *Cleft Palate-Craniofac J* **31**, 473-481 (1994)
- [3] Aronson, J., Gao, GG., Shen, XC., McLaren, SG., Skinner, RA., Badger, TM., Lumpkin, CK., "The effect of aging on distraction osteogenesis in the rat", *J. Orthop. Res.* **19**, 421-427 (2001)
- [4] Basciftci, F.A., Korkmaz, H.H., Iseri, H., Malkoc, S. "Biomechanical evaluation of mandibular midline distraction osteogenesis by using finite element method" *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopaedics* **125**: 706-715 (2004).
- [5] Baxter, M.A., Wynn, R.F., Jowitt, S.N., Wraith, J.E., Fairbairn, L.J., Bellantuono, I,

- Study of telomere length reveals rapid aging of human marrow stromal cells following in vitro expansion*, "Stem Cells" **22**, 675–682 (2004)
- [6] Boccaccio, A., Lamberti, L., Pappalettere, C., Carano, A., Cozzani, M. "Mechanical behaviour of an osteotomized mandible with distraction orthodontic devices" *Journal of Biomechanics* **39**, 2907-2918 (2006)
- [7] Boccaccio, A., Lamberti, L., Pappalettere, C., Cozzani, M., Siciliani, G., "Comparison of different orthodontic devices for mandibular Symphyseal Distraction Osteogenesis: a finite element study", *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopaedics*. **134**(2), 260-269 (2008)
- [8] A. Boccaccio, L. Lamberti, C. Pappalettere, "Effects of ageing on the latency period in mandibular distraction osteogenesis: a computational mechano-biological analysis" *Journal of Mechanics in Medicine and Biology*, **8**(2), 203-225, (2008).
- [9] Beek, M., Koolstra, J.H., Van Ruijven, L.J., Van Eijden, T.M.G.J. "Three-dimensional finite element analysis of the human temporomandibular joint disc", *Journal of Biomechanics* **33**: 307-316 (2000).
- [10] Carter, D.R., Blenman, P.R., Beaupré, G.S. "Correlations between mechanical stress history and tissue differentiation in initial fracture healing", *Journal of Orthopaedic Research* **6**: 736-748 (1998).
- [11] Chen, J., Sotome, S., Wang, J., Orii, H., Uemura, T., Shinomiya, K., "Correlation of in vivo bone formation capability and in vitro differentiation of human bone marrow stromal cells", *J Med Dent Sci* **52**:27-34 (2005).
- [12] Claes, L.E., Heigele, C.A. "Magnitudes of local stress and strain along bony surfaces predict the course and type of fracture healing" *Journal of Biomechanics* **32**: 255-266 (1999).
- [13] Conley, R., Legan, H. "Mandibular symphyseal distraction osteogenesis: diagnosis and treatment planning considerations" *Angle Orthodontics* **73**: 3-11 (2003).
- [14] Costantino, P.D., Friedman, C.D., Shindo, M.L., Houston, C.G., Sisson, G.A. "Experimental mandibular regrowth by distraction osteogenesis long term results" *Archives of Otolaryngology-Head & Neck Surgery* **119**: 511-516 (1993).
- [15] Del Santo M., Guerrero, C.A., Buschang, P.H., English, J., Samchukov, L., Bell, W. "Long-term skeletal and dental effects of mandibular symphyseal distraction osteogenesis" *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopaedics* **118**: 485-493 (2000).
- [16] Faulkner, M.G., Hatcher, D.C., Hay, A., "A three-dimensional investigation of temporomandibular joint loading", *J. Biomech.* **20**, 997-1002 (1987)
- [17] Gómez-Benito, M.J., García-Aznar, J.M., Kuiper, J.H., Doblaré, M., "Influence of fracture gap size on the pattern of long bone healing: a computational study" *Journal of Theoretical Biology* **235**: 105-109 (2005).
- [18] Guerrero, C.A., Contasti, G.I. Transverse (horizontal) mandibular deficiency. In: *Modern Practice in Orthognathic and Reconstructive Surgery* (Bell, W.H. Editor). Saunders, Philadelphia (USA), pp. 2383-2397 (1992).
- [19] Guerrero, C.A., Bell, W.H., Contasti, G., Rodriguez, A.M. "Mandibular widening by intraoral distraction osteogenesis" *British Journal of Oral Maxillofacial Surgery* **35**: 383-92 (1997).
- [20] Huiskes, R., van Driel, W.D., Prendergast, P.J., Søballe, K. "A biomechanical regulatory model of periprosthetic tissue differentiation" *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **8**: 785-788 (1997).

- [21] Ilizarov, G.A.. "The tension stress effect on the genesis and growth of tissues. Part I, the influence of stability of fixation and soft tissue preservation; Part II, the influence of the rate and frequency of distraction", *Clinical Orthopaedics* 238: 249-285 (1989).
- [22] Imola, J.M.. Craniofacial distraction osteogenesis. <http://www.emedicine.com/ent/topic702.htm> (2004)
- [23] Kelly, D.J., Prendergast, P.J.. "Mechano-regulation of stem cell differentiation and tissue regeneration in osteochondral defects", *Journal of Biomechanics* 38: 1413-1422 (2005).
- [24] Lacroix, D., Prendergast, P.J.. A mechano-regulation model for tissue differentiation during fracture healing: analysis of gap size and loading, "*Journal of Biomechanics*" 35: 1163-1171 (2002).
- [25] Lazar, F.C., Klesper, B., Siessegger, M., Zoeller, J.E., Hidding, J., "Modified distraction protocols in vertical distraction osteogenesis", *Int. Poster J. Dent.Oral. Med.* 5:Poster 185 (2003)
- [26] Mattik, C.R., Chadwick, S.M., Morton, M.E., "Mandibular advancement using an intra-oral osteogenic distraction technique: a report of three clinical cases" *J. Orthod.* 28, 105-114 (2001)
- [27] Mendes, S.C., Tibbe, J.M., Veenhof, M., Bakker, K., Both, S., Platenburg, P.P., Oner, F.C., De Bruijn, J.D., Van Blitterswijk, C.A., "Bone tissue-engineered implants using human bone marrow stromal cells: effect of culture conditions and donor age" *Tissue Eng.* 8,911-920 (2002)
- [28] McNamara, JG, Brudon, WM. "Orthodontic and orthopaedic treatment in the mixed dentition", Ann Arbor (MI): Needham Press; pp. 131-145 (1993).
- [29] Park, J.S., Kim, H.Y., Kim, H.W., Chae, G.N., Oh, H.T., Park, Y., Shim, H., Seo, M., Shin, E.Y., Kim, E.G., Park, S.C., Kwak, S.J., "Increased caveolin-1, a cause for the declined adipogenic potential of senescent human mesenchymal stem cells", *Mech. Ageing Dev.* 126, 551-559 (2005)
- [30] Pauwels, F. Eine neue theorie über den einflu mechanischer reize auf die differenzierung der stützgewebe. *Z Anat Entwickl. Gesch.* 121, 478-515. Translated as A new theory concerning the influence of mechanical stimuli on the differentiation of the supporting tissues. In: Maquet, P., Furlong, R., (Eds) *Biochanics of the Locomotor apparatus*, Springer, Berlin, 1980, pp. 375-407 (1960).
- [31] Prendergast, PJ, Huiskes, R, Søballe, K. "Biophysical stimuli on cells during tissue differentiation at implant interfaces", *Journal of Biomechanics* 30: 539-548, (1997).
- [32] Robinson, R., O'Neal, P.J., Robinson, G.H. "Mandibular distraction force: laboratory data and clinical correlation", *J. Oral. Maxillofac. Surg.* 59, 539-544 (2001)
- [33] Schwartz-Dabney, C.L., Dechow, P.C. "Variations in cortical material properties throughout the human dentate mandible", *American Journal of Physical Anthropology* 120, 252-277 (2003).
- [34] Weil, T.S., Van Sickles, J., Payne, J. "Distraction osteogenesis for correction of transverse mandibular deficiency: a preliminary report", *Journal of Oral Maxillofacial Surgery* 55, 953-960 (1997).