

Stymulacja wzrostu żuchwy w badaniach na modelu zwierzęcym. Przegląd literatury

Stimulation of mandibular growth in animal model studies. Literature review

Maciej Jedliński¹ **A****B****C****F** (ORCID ID: 0000-0003-3446-6119)

Joanna Janiszewska-Olszowska² **D****E** (ORCID ID: 0000-0003-4374-2568)

Wkład autorów: **A** Plan badań **B** Zbieranie danych **C** Analiza statystyczna **D** Interpretacja danych
E Redagowanie pracy **F** Wyszukiwanie piśmiennictwa

Authors' Contribution: **A** Study design **B** Data Collection **C** Statistical Analysis **D** Data Interpretation
E Manuscript Preparation **F** Literature Search

¹ Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Stomatologii Zintegrowanej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie
Student Society at the Department of Interdisciplinary Dentistry of the Pomeranian Medical University in Szczecin

² Zakład Stomatologii Zintegrowanej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie,
Department of Interdisciplinary Dentistry of the Pomeranian Medical University in Szczecin

Streszczenie

Wzrost żuchwy oraz możliwość jego modyfikacji przez wpływ zewnętrznych czynników biomechanicznych jest przedmiotem licznych badań eksperymentalnych prowadzonych na zwierzętach. Mają one na celu poznanie mechanizmów rozwoju żuchwy, jak również rozszerzenie metod leczenia ortopedycznego i ortodontycznego jego zaburzeń. **Cel.** Celem pracy był przegląd piśmiennictwa prezentującego wyniki badań na zwierzętach, które dotyczyły wpływu zewnętrznych czynników biomechanicznych modyfikujących rozwój żuchwy. **Materiały i metody.** Przeprowadzono kwerendę w bazie PubMed, używając następujących słów kluczowych: mandibular growth AND stimulation AND cytokines AND animal model. Znalezione prace poddano analizie. Badania włączano do przeglądu na podstawie następujących kryteriów: eksperymentalne badania na modelu zwierzęcym, badania dotyczące cytokin, artykuły odnoszące się do stymulacji wzrostu żuchwy, opublikowane w języku

Abstract

The mandibular growth and the possibility of its modification by external biomechanical factors is the subject of numerous experimental studies conducted on animals. They are aimed at learning about the mechanisms of mandibular development, as well as expanding methods of orthopaedic and orthodontic treatment of its disorders. **Aim.** The study aimed to review the literature presenting the results of animal studies on the effects of external biomechanical factors modifying mandibular development. **Material and methods.** The literature search was conducted in the PubMed database using the following keywords: mandibular growth AND stimulation AND cytokines AND animal model. The papers found were analysed. Studies that met the following criteria were included: experimental animal model studies, studies on the use of cytokines, articles on mandibular growth stimulation, papers published in English within the last 5 years. Results. Changes in the mandibular growth potential

¹ Student / student

² Dr hab. n. med., specjalista ortodonta / DDS, PhD, Associate Professor, specialist in orthodontics

Dane do korespondencji/Correspondence address:

Maciej Jedliński

Zakład Stomatologii Zintegrowanej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie

ul. Powstańców Wielkopolskich 72

70-110 Szczecin

angielskim w ciągu ostatnich 5 lat. Wyniki. Zmiany potencjału wzrostowego żuchwy, oceniane w badaniach eksperymentalnych na zwierzętach, uzyskano pod wpływem czynników biomechanicznych, takich jak aparaty czynnościowe oraz skracanie siekaczy dolnych. Podejmowano także próby terapii hormonalnej. Stymulacja hormonalna działa synergistycznie z terapią czynnościową, przyspieszając wzrost żuchwy i zwiększając efekt terapeutyczny. **Wnioski.** Wielu autorów podejmuje badania w celu znalezienia czynników, które przyczyniałyby się do modyfikacji rozwoju żuchwy. Wyniki takich badań mogłyby być w przyszłości wykorzystane do leczenia wad zgryzu klasy II i III oraz asymetrycznego wzrostu żuchwy. (Jedliński M, Janiszewska-Olszowska J. Stymulacja wzrostu żuchwy w badaniach na modelu zwierzęcym. Przegląd literatury. Forum Orthod 2019; 15: 285-300)

Nadesłano: 23.09.2019

Przyjęto do druku: 30.12.2019

Słowa kluczowe: wzrost żuchwy, model zwierzęcy, wady szkieletowe żuchwy, stymulacja, leczenie czynnościowe

Wstęp

Znajomość rozwoju żuchwy w okresie pre- i postnatalnym ma kluczowe znaczenie w leczeniu ortodontycznym. Celem terapii ortodontycznej jest modyfikacja nieprawidłowego rozwoju żuchwy przez ukierunkowanie wzrostu kłykcia, który zachodzi w obrębie jego chrząstki. Chrząstka stawowa wykazuje dużą plastyczność dzięki mechanicznej reakcji chondrocytów. Adaptacja do oddziaływujących sił mechanicznych zachodząca wewnątrz stawu skroniowo-żuchwowego oraz kości odbywa się poprzez procesy chondro- i osteogenezy (1).

Żuchwa jest jedyną ruchomą kością czaszki, z którą połączona jest przez staw skroniowo-żuchwowy, a poprzez kontakty międzyzębowe wchodzi w relacje czynnościowe ze szczęką.

W budowie żuchwy wyróżnia się kilka części rozwojowych i funkcjonalnych: trzon, część zębodołową, gałąź, kąt, wyrostki dziobiaste oraz kłykciowe. Trzon żuchwy pełni funkcję ochronną dla nerwu zębodołowego dolnego i stanowi podstawę dla innych elementów (2, 3). Wygląd części zębodołowej jest całkowicie zależny od zębów, a wyrostek dziobiasty i kąt żuchwy pozostają pod wpływem przyczepów mięśni, ich napięcia i pracy. Wyrostek kłykciowy jest strukturą odmienną, nie powoduje znaczącego wzrostu żuchwy, ma jednak wpływ na kierunek jej wzrostu i funkcję (1, 3).

W przebiegu rozwoju kształt żuchwy ulega zmianie, co pozwala jej spełniać określone funkcję w danym okresie rozwojowym. W okresie noworodkowym kąt żuchwy jest rozwarty, gałąź krótka, a wyrostek kłykciowy płaski. Składa się z dwóch kości połączonych chrząstkozrostem w linii

evaluated in experimental animal studies were obtained when biomechanical factors such as functional appliances and shortening of lower incisors were used. Hormonal therapy was also attempted. Hormonal stimulation works synergistically with functional therapy, accelerating the mandibular growth and increasing therapeutic effects.

Conclusions. Many authors have been undertaking studies to find factors that would contribute to the modification of the mandibular development. Results of such studies could be used in the future to treat class II and III malocclusions and asymmetrical mandibular growth. (Jedliński M, Janiszewska-Olszowska J. Stimulation of mandibular growth in animal model studies. Literature review. Orthod Forum 2019; 15: 285-300)

Received: 23.09.2019

Accepted: 30.12.2019

Key words: mandibular growth, animal model, skeletal defects of the mandible, stimulation, functional treatment

Introduction

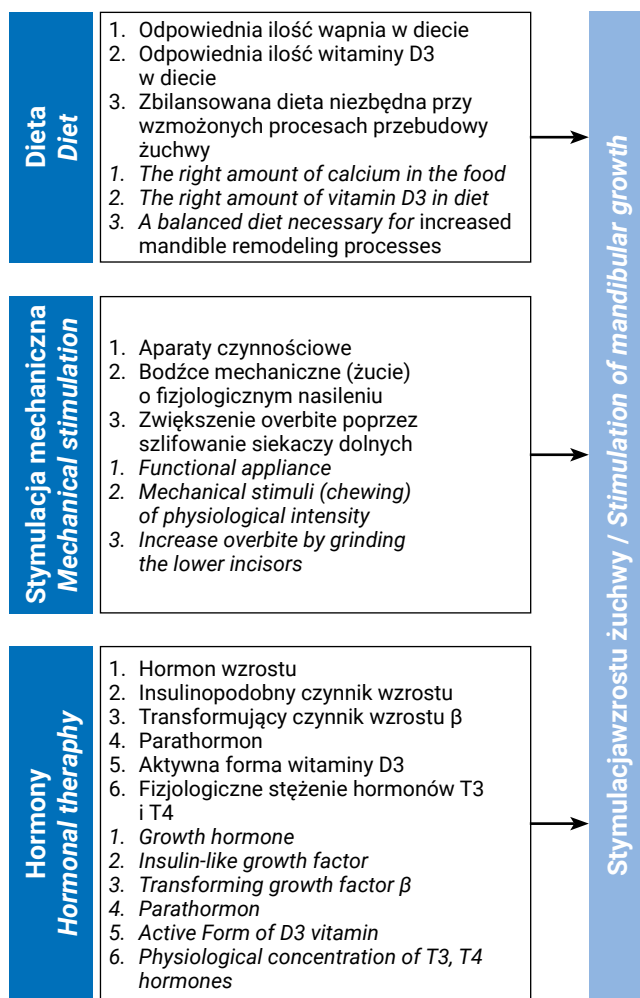
Knowledge of the development of the mandible in the pre- and postnatal period is crucial in orthodontic treatment. Orthodontic therapy aims to modify the abnormal development of the mandible by targeting the growth of the condyle occurring within its cartilage. The articular cartilage shows high plasticity due to a mechanical reaction of chondrocytes. Adaptation to the mechanical forces occurring inside the temporomandibular joint and the bone takes place through chondro- and osteogenesis (1).

The mandible is the only movable bone of the skull, connected to the skull through the temporomandibular joint, and through contacts between teeth it enters into functional relations with the maxilla.

Regarding the mandibular structure, there are several developmental and functional segments: body, alveolar part, ramus, angle, coronoid and condylar processes. The mandible body protects the inferior alveolar nerve and provides the basis for other elements (2, 3). The appearance of the alveolar part is entirely dependent on teeth, and the coronoid process and mandibular angle remain under the influence of muscle attachments, their tension and work. The condylar process is a different structure and it does not cause significant growth of the mandible but it affects the direction of its growth and function (1, 3).

During development, the shape of the mandible changes, and therefore, the mandible can perform specific functions in a given developmental period. In the neonatal period, the mandibular angle is open, the ramus is short and the condylar process is flat. It consists of two bones connected by synchondrosis in the midline. When born, a human has significant retrogenia and the physiological ANB angle after

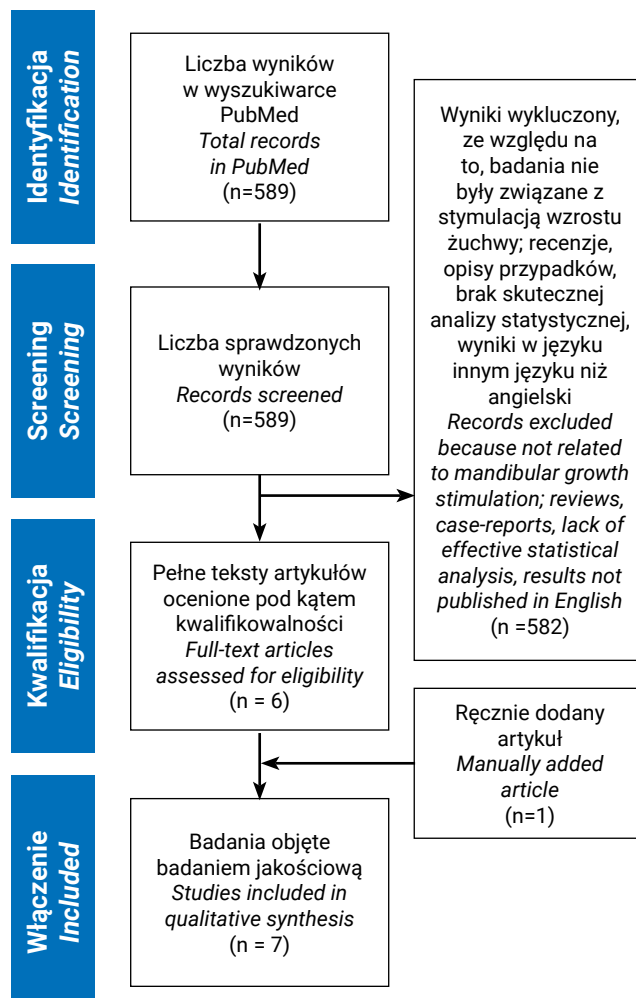
Stimulation of mandibular growth in animal model studies. Literature review



Rycina 1. Czynniki stymulujące wzrost żuchwy.

Figure 1. Factors stimulating the mandibular growth.

pośrodkowej. Człowiek rodzi się z znaczną retrogenią, a fizjologiczny kąt ANB po urodzeniu jest zdecydowanie większy niż u osoby dorosłej i wynosi około 14 stopni. Następnie w wyniku stymulacji mechanicznej (ssanie, odpowiednia pozycja podczas snu, w późniejszych latach żucie twardych pokarmów) oraz hormonalnej (hormon wzrostu, odpowiednia podaż i transformacja nerkowa wit. D3, TSH) dochodzi do szybszego wzrostu żuchwy względem szczęki (Ryc. 1). Większość wzrostu obserwowanego w płaszczyźnie strzałkowej zachodzi w tylnej części kości. Oznacza to, że przednia krawędź gałęzi jest stale resorbowana, aby wytworzyć miejsce dla kolejnych trzonowców. Ponieważ odkładanie się kości jest intensywniejsze niż proces jej resorpcji, dochodzi do powiększania się gałęzi, co w rezultacie daje wzrost wymiarów żuchwy, a dzięki równoczesnemu wolniejszemu wzrostowi szczęki prowadzi do ostatecznej redukcji kąta ANB do 2 stopni (3, 4, 5). Pionowy wzrost żuchwy jest znaczny, ponieważ musi się dostosować do obniżania się szczęki, aby utrzymać pionowy wymiar okluzji.



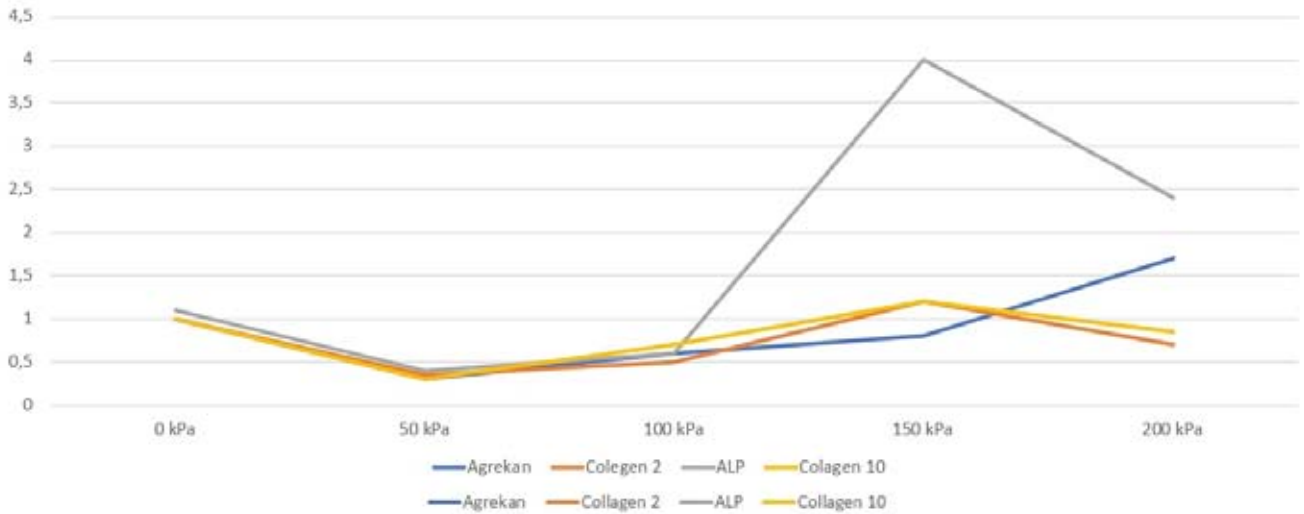
Rycina 2. Prisma 2009 Flow Diagram.

Figure 2. Prisma 2009 Flow Diagram.

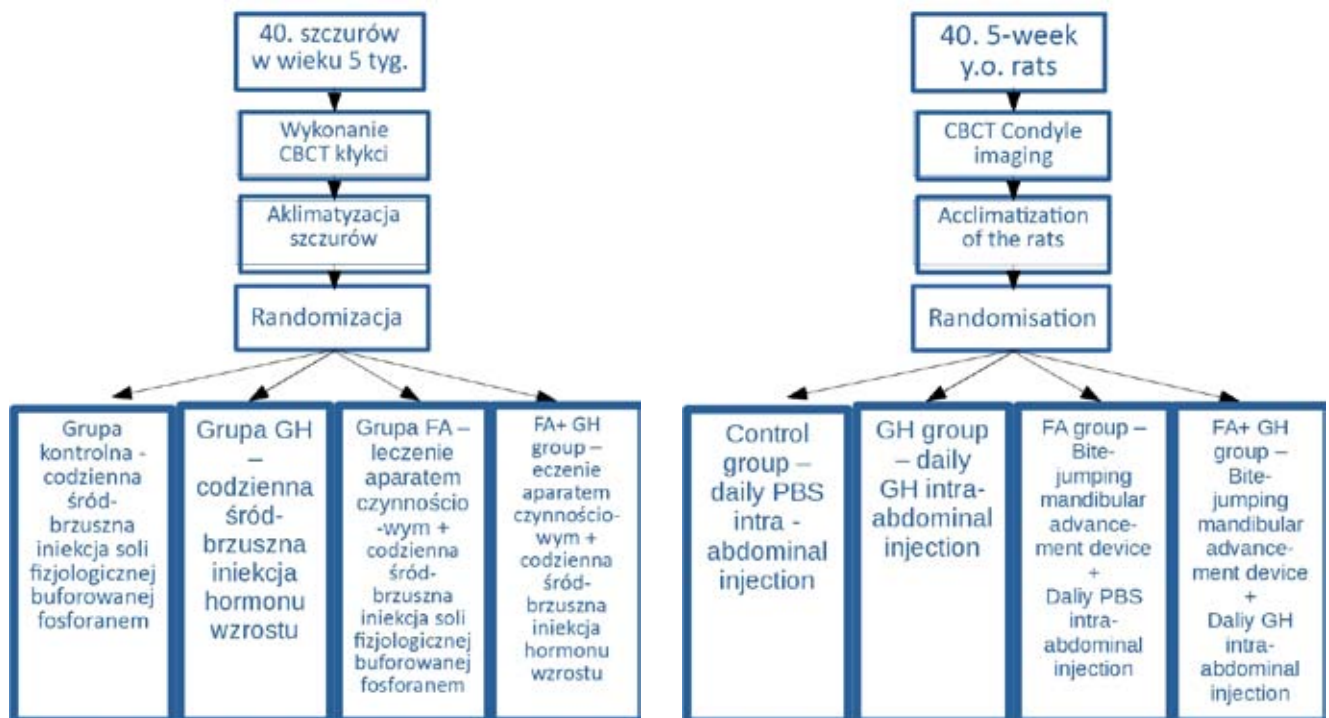
birth is significantly larger than in an adult, and is about 14 degrees. Then, as a result of mechanical stimulation (sucking, appropriate sleeping position, chewing hard foods in later years) and hormonal stimulation (growth hormone, appropriate supply and renal transformation of vitamin D3, TSH), the mandibular growth in relation to the maxilla is faster (Fig. 1). Most of the growth in the sagittal plane occurs in the posterior part of the bone. It means that the anterior edge of the ramus is constantly resorbed to create space for subsequent molars. Since bone deposition is more intense than the process of bone resorption, the ramus size increases, increasing the mandibular dimensions and, due to the simultaneous slower growth of the maxilla, it leads to a final reduction in the ANB angle to 2 degrees (3, 4, 5). Vertical growth of the mandible is significant because the mandible has to adapt to the maxillary lowering to maintain the vertical dimension of the occlusion. The growth and change in the shape of condylar processes is a result of the ability to adapt to growing fossa of the temporomandibular joint (2,3,6).

Wzrost i zmiana kształtu wyrostków kłykciowych to wynik zdolności adaptacyjnych do powiększających się dołów stawu skroniowo-żuchwowego (2,3,6). Jedni spośród autorów klasyfikowali wyrostek kłykciowy jako centrum wzrostowe, inni jako miejsce wzrostowe, czyli obszar anatomiczny niezdolny do samodzielnego wzrostu tkanki wywołanego przez potencjał wewnętrzny, jednak zdolny do tworzenia

Some authors classified the condylar process as a growth centre, others as a growth site, i.e. an anatomical area incapable of independent tissue growth caused by inherent potential, but capable of creating new tissue in response to external forces. The growth centre has the capacity for growth independent of external factors. However, the tissues of the condylar process are unable to grow on

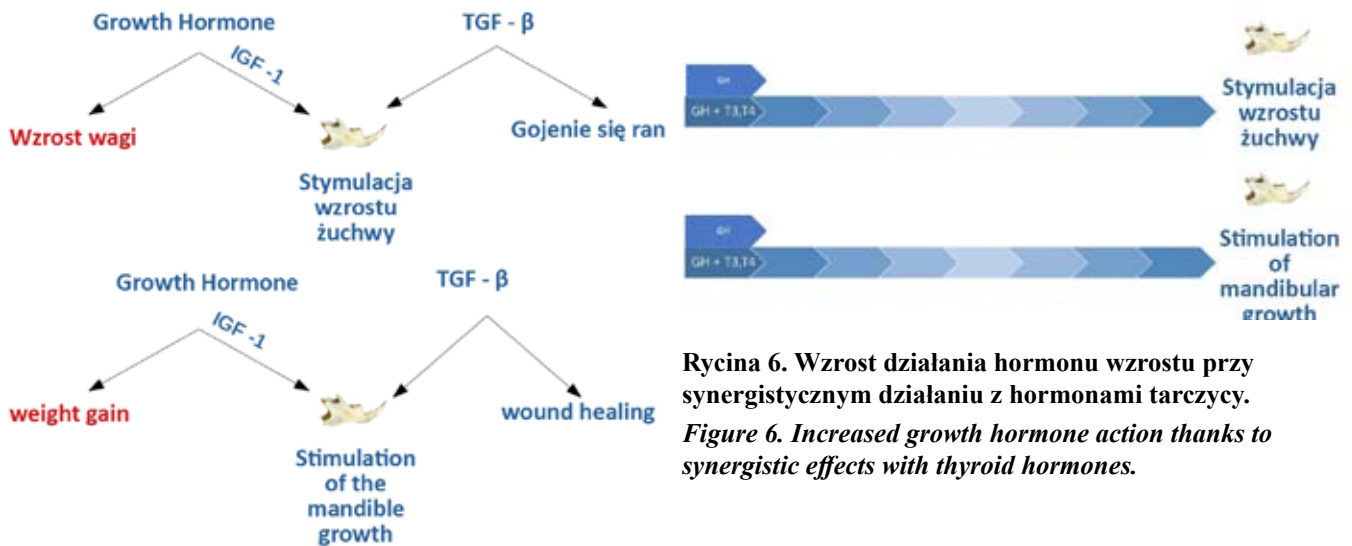


Rycina 3. Relatywna ekspresja mRNA przy różnych wartościach ciśnienia podczas badania in vitro.
 Figure 3. The relative mRNA expression at various pressure values during the in vitro test.



Rycina 4. Schemat przebiegu badania Wang S. i wsp.
 Figure 4. Flowchart of the study by Wang S. et al.

Stimulation of mandibular growth in animal model studies. Literature review



Rycina 6. Wzrost działania hormonu wzrostu przy synergistycznym działaniu z hormonami tarczycy.

Figure 6. Increased growth hormone action thanks to synergistic effects with thyroid hormones.

Rycina 5. Sposób działania oraz różnice hormonu wzrostu i TGF-β.

Figure 5. Mode of action and differences of growth hormone and TGF-β.

nowej tkanki w odpowiedzi na siły zewnętrzne. Centrum wzrostowe posiada zdolność do wzrostu niezależnego od wpływu czynników zewnętrznych. Tkanki wyrostka kłykciowego nie są jednak w stanie wzrastać samodzielnie i potrzebują zewnętrznej stymulacji (3, 4, 5). Doświadczenia z przeszczepianiem chrząstki wykazały, że nie wszystkie chrząstki szkieletowe zachowują się po transplantacji w jednakowy sposób. Przykładowo, kiedy przeszczep dotyczył chrząstki nasadowej kości długich, to kontynuowała ona swój wzrost w sposób niezakłócony, co dowodzi, że ma potencjał wzrostowy; podobnie zachowywała się chrząstka pobrana z chrząstkozrostu klinowo-potylicznego podstawy czaszki (4, 6). Przeszczepiając chrząstkę pobraną z okolicy wyrostków kłykciowych żuchwy, nie wykryto żadnych symptomów wzrostu, a w przypadku badań na pożywkach był on dużo słabszy niż w przypadku innych rodzajów chrząstki. Oznacza to, że większość chrząstek jest w stanie reagować jak ośrodki wzrostu, nie dotyczy to jednak chrząstek wyrostków kłykciowych (4).

Badania na zwierzętach dowiodły, że chociaż stymulacja mechaniczna lub chirurgiczna prowadzi do zmian położenia wyrostka kłykciowego w stawie skroniowo-żuchwowym, to jednak zmiany te zachodzą w ograniczonym zakresie. Wskazuje to na zasadność leczenia wad klasy II za pomocą aparatu czynnościowego, jednakże czynniki przyczyniające się do uwolnienia potencjału wzrostowego wyrostka kłykciowego są nie do końca poznane. Badania prowadzone na zwierzętach mają na celu odnalezienie biologicznych i biomedycznych praw oraz wyjaśnienie mechanizmów biologicznych leżących u podstaw stanów patologicznych. Nie oznacza to jednak,

their own and need external stimulation (3, 4, 5). Experience with cartilage transplantation has shown that not all skeletal cartilage behaves in the same way after transplantation. For example, when the transplant involved the epiphyseal cartilage of long bones, it continued its growth undisturbed, which proves that it has growth potential; the cartilage taken from the sphenoid-occipital synchondrosis of the cranial base behaved similarly (4, 6). When transplanting cartilage taken from the area of mandibular condylar processes, no growth symptoms were observed and, when tested on media, the growth was much weaker than in other types of cartilage. It means that most cartilages can react like growth centres, but it does not apply to condylar cartilage (4).

Animal studies have shown that although mechanical or surgical stimulation leads to changes in the position of the condylar process in the temporomandibular joint, these changes occur to a limited extent. It indicates that class II malocclusions should be treated with the use of a functional appliance; however, the factors contributing to the release of the growth potential of the condylar process are not fully understood. Animal studies aim to find biological and biomedical laws and explain the biological mechanisms underlying pathological conditions. However, this does not mean that they can be automatically transferred to clinical situations in humans. Even in the case of biological similarity, the results of experiments, which are an essential tool in clinical trials, can only be transferred to humans under specific conditions (5).

że mogą być one automatycznie przenoszone na sytuacje kliniczne u ludzi. Nawet w przypadku biologicznego podobieństwa wyniki eksperymentów, które są ważnym narzędziem w badaniach klinicznych, mogą być przeniesione na ludzi jedynie w określonych warunkach (5).

Cel

Celem pracy był przegląd piśmiennictwa prezentującego wyniki badań przeprowadzonych na zwierzętach, które dotyczyły wpływu zewnętrznych czynników biomechanicznych modyfikujących rozwój żuchwy.

Materiały i metody

Przegląd został dokonany zgodnie z wytycznymi PRISMA (7). Wyszukiwanie literatury przeprowadzono 20 lipca 2018, korzystając z bazy PubMed, przy użyciu następujących słów kluczowych: mandibular growth AND stimulation AND cytokines AND animal model. Wszystkie znalezione rekordy zostały przeanalizowane. Do przeglądu zostały włączone badania, które spełniały następujące kryteria: eksperymentalne badania na zwierzętach, badania dotyczące zewnętrznego stosowania cytokin, artykuły dotyczące stymulacji wzrostu żuchwy, prace w języku angielskim opublikowane w ciągu ostatnich 5 lat (Ryc. 2).

Kryteria włączenia

W tym przeglądzie zastosowano następujące kryteria włączenia: (1) randomizowane badania kliniczne (RCT - Randomized Clinical Trial); (2) badanie kohortowe; (3) badanie typu case-control; (4) artykuły opublikowane w ciągu ostatnich 5 lat, (5) badania przeprowadzone na zwierzętach; (6) wyniki opublikowane w języku angielskim.

Kryteria wykluczenia były następujące: (1) przeglądy literatury, (2) opisy przypadków; (3) streszczenia i debaty autorskie lub redakcyjne; (4) brak skutecznej analizy statystycznej; (5) artykuły niezwiązane ze stymulacją wzrostu żuchwy.

Ekstrakcja danych

Dwóch recenzentów przeanalizowało badania, czytając najpierw tytuły i streszczenia, a następnie pełny tekst wybranych artykułów. Wszelkie wątpliwości lub spory między dwoma recenzentami zostały rozwiązane na drodze dyskusji. Wszystkie dane wyodrębnione z wybranych badań przedstawiono w tabeli 1.

Ocena jakości i stroniczości badań

Ocenę jakości przeprowadzono korzystając ze skali Jadad'a do badań RCT i RCCT (8). W ocenie wzięto pod uwagę, czy i w jaki sposób badanie było randomizowane z odpowiednio opisanymi metodami w celu ustalenia poziomu ryzyka stroniczości. Ocena wynosiła od zera do pięciu, a wysoki

Aim

The study aimed to review the literature presenting the results of animal studies on the effects of external biomechanical factors modifying mandibular development.

Materials and methods

The review was carried out following the PRISMA guidelines (7). The literature search was conducted on 20 July 2018, using the PubMed database and the following keywords: mandibular growth AND stimulation AND cytokines AND animal model. All the records found have been analysed. The review included studies that met the following criteria: experimental animal studies, studies on the external use of cytokines, articles on mandibular growth stimulation, papers published in English within the last 5 years (Fig. 2).

Inclusion criteria

The following inclusion criteria were applied in this review: (1) Randomized Clinical Trial (RCT); (2) cohort study; (3) case-control study; (4) articles published in the last five years, (5) animal studies; (6) results published in English. The exclusion criteria were as follows: (1) literature reviews, (2) case reports; (3) abstract and authorial or editorial debates; (4) lack of effective statistical analysis; (5) articles not related to mandibular growth stimulation.

Data extraction

Two reviewers analysed studies, first reading the titles and abstracts, then the full text of selected articles. Any doubts or disputes between two reviewers were resolved through a discussion. Table 1 presents all data extracted from the selected studies.

Evaluation of the quality and bias of studies

The quality assessment was performed using the Jadad's scale for RCT and RCCT trials (8). The assessment included whether and how the study was randomised with appropriately described methods to determine the risk level of bias. The evaluation ranged from zero to five, and the high score indicated good quality of a trial. In addition, the Newcastle-Ottawa Quality Assessment Form was used for case-control studies (9). The quality of all included trials was based on object selection, comparability and exposure of both groups. The possible score ranged from zero to nine points, and a high score indicated good quality of a trial.

Results

Tables 2 and 3 show the results of a qualitative analysis of trials.

Stimulation of mandibular growth in animal model studies. Literature review

wynik wskazywał na dobrą jakość badania. Dodatkowo do badań typu case-control wykorzystano formularz oceny jakości według skali Newcastle–Ottawa (9). Jakość wszystkich włączonych badań była oparta na wyborze obiektu, porównywalności i ekspozycji obu grup. Możliwy wynik wahał się od zera do dziewięciu punktów, a wysoki wynik wskazywał na dobrą jakość badania.

Wyniki

Wyniki oceny jakościowej badań zostały zamieszczone w tabelach nr 2 i 3.

Dyskusja

Pionierskie badania dotyczące wpływu ortodontycznych aparatów czynnościowych na procesy biochemiczne wewnątrz kości przeprowadzili między innymi Petrovic i McNamara (10, 11, 12). Ich prace otworzyły dyskusję wśród innych badaczy na temat czynników, które mogłyby mieć znaczący wpływ na wzrost i przemodelowanie żuchwy. Współcześni autorzy nadal odnoszą się do metodologii badań opracowanych przez Petrovica, czerpiąc z nich inspiracje. W artykułach zawartych w przeglądzie autorzy w innowacyjny sposób przedstawili synergię leczenia czynnościowego z terapią hormonalną oraz wpływu innych czynników pochodzenia wewnętrznego na przebieg procesów wzrostowych w żuchwie.

Stwierdzono, że komórki tkanki chrzęstnej reagują na obciążenia mechaniczne. Badacze z Uniwersytetu Jiao Tong w Szanghaju, Li H. i wsp. hodowali *in vitro* chondrocyty stawu skroniowo-żuchwowego 5 królików i poddawali je ciśnieniu statycznemu o wartościach: 50 kPa, 100 kPa, 150 kPa i 200 kPa przez 3 godziny. Próbę kontrolną stanowiła hodowla chondrocytów, których nie poddano obciążeniu mechanicznemu. Badano proliferację komórek (obserwacja SEM), apoptozę i ekspresję agrekanu (AGG), kolagenu II (COL2), kolagenu X (COL10) oraz fosfatazy alkalicznej (ALP). Proliferacja chondrocytów liniowo zwiększyła się przy 100 kPa i zmniejszyła się przy 200 kPa. Częstotliwość apoptozy i nekrozy chondrocytów zwiększyła się zauważalnie przy ciśnieniu maksymalnym 200 kPa. Ekspresja AGG wzrosła znacząco przy 200 kPa. Ekspresja COL2, COL10 oraz stężenie ALP była niska przy 50 kPa, a osiągała swój szczyt przy 150 kPa, zmniejszając się przy 200 kPa (ryc. 3). Ultrastruktura chondrocytów prezentowała się następująco: przy 100 kPa komórki były powiększone, posiadały też większe jądro; przy 200 kPa komórki kurczyły się, znaleziono też komórki po ukończonym procesie apoptozy lub martwicy. Badanie potwierdza, że chondrocyty reagują na zmiany ciśnienia, a reakcje te z pewnością występują także pod wpływem bodźców związanych z czynnością żucia (13).

Oceny wpływu wysuwania żuchwy na ekspresję genów osteoblastów wyrostka kłykciowego dokonali brazylijscy

Discussion

Pioneering studies on the effects of orthodontic functional appliances on biochemical processes inside bones were conducted by Petrovic and McNamara, among others (10, 11, 12). Their work opened a discussion among other researchers on factors that could have a significant impact on the growth and remodelling of the mandible. Contemporary authors still refer to and inspire from the research methodology developed by Petrovic. In the articles included in the review, the authors presented the synergy of functional treatment with hormonal therapy in an innovative way as well as the effects of other internal factors on the course of growth processes in the mandible.

It was found that cartilage cells react to mechanical load. Researchers from the Jiao Tong University in Shanghai, Li H. et al. cultured *in vitro* chondrocytes of the temporomandibular joint from 5 rabbits and subjected them to the static pressure of 50 kPa, 100 kPa, 150 kPa and 200 kPa for 3 hours. The control group included a culture of chondrocytes which were not subject to mechanical stress. Cell proliferation (SEM observation), apoptosis and expression of aggrecan (AGG), collagen II (COL2), collagen X (COL10) and alkaline phosphatase (ALP) were studied. Chondrocyte proliferation increased linearly at 100 kPa and decreased at 200 kPa. The frequency of chondrocyte apoptosis and necrosis increased noticeably at the maximum pressure of 200 kPa. The AGG expression increased significantly at 200 kPa. The expression of COL2, COL10 and ALP concentration was low at 50 kPa and reached its peak at 150 kPa, decreasing at 200 kPa (Fig. 3). The chondrocyte ultrastructure was as follows: at 100 kPa the cells were enlarged and their nucleus was larger; at 200 kPa the cells were shrinking, and there were also cells after completed apoptosis or necrosis. The study confirms that chondrocytes react to changes in pressure, and these reactions are certainly also present due to stimuli associated with chewing (13).

The effects of mandibular projection on the expression of genes of osteoblasts in the condylar process were evaluated by Brazilian researchers from the Federal University of Minas Gerais on 48 female C57 mice (14). In the experimental group, in 24 mice lower incisors were shortened by 1 mm with a file, causing a change of the overbite. Incisor filing was repeated every three days for a period of 21 days, and the animals' weight was monitored. During the first nine days, the weight of mice in the experimental group decreased and then normalised. A CT examination assessed the change in the condylar process shape. After the end of the study, an increase in the sagittal dimension of the condylar process was observed. Gene expression was studied by a real-time polymerase chain reaction (RT-PCR protocol). It was found that the incisor shortening caused remodelling of the mandibular condylar process resulting from functional changes involving protrusion of the mandible while chewing. Functional changes also result in the higher biochemical

Tabela 1. Charakterystyka badań

Table 1. Characteristics of studies

Autor i rok publikacji Author and year of publication	Rodzaj badania Type of study	Obiekt badań Subject type	Liczebność próby Number of subjects	Czas obserwacji Follow-up duration	Grupa testowa Test group	Grupa kontrolna Control group
Li H al. (2017)	Badanie case control, in-vitro <i>Case control study, in-vitro study</i>	Chondrocyty z kłykcia żuchwy 5 królików <i>Mandibular condylar chondrocytes of 5 rabbits</i>	5	Brak <i>none</i>	Wyższe ciśnienie <i>Higher pressure</i>	Niższe ciśnienie <i>Lower pressure</i>
Valerio P. et al. (2018)	Badanie case control, in-vitro <i>Case control study, in-vitro study</i>	Wpływ wydłużania żuchwy wywołanego przez szlifowanie dolnych siekaczy u myszy <i>Effect of the mandible extension induced by grinding of lower incisors in mice</i>	72	21 dni <i>21 days</i>	Skrócenie siekaczy poprzez szlifowanie <i>Shortening of incisors by grinding</i>	Bez interwencji <i>No intervention</i>
Wang S. et al. (2017)	RCT	Efekt synergiczny aparatu czynnościowego i wzrostu hormonalnej terapii na rozwój żuchwy szczura. <i>Synergistic effects of a functional appliance and growth hormone therapy on the growth of the rat's mandible.</i>	30	4 tyg. <i>4 weeks</i>	Aparat czynnościowy i stymulacja hormonalna <i>Functional appliance and hormonal stimulation</i>	Tylko aparat czynnościowy, Tylko stymulacja hormonem wzrostu lub wstrzykiwanie soli fizjologicznej <i>Hormonal stimulation only, Functional appliance only or saline injection</i>
Patil A. et al. (2017)	RCT	Wpływ podawanego miejscowo insulinopodobnego czynnika wzrostu i transformującego czynnika wzrostu β na wzrost komórek chrząstki kłykciowej <i>The effects of locally administered insulin-like growth factor and transforming growth factor-β on the growth of condylar cartilage cells</i>	24	30 dni <i>30 days</i>	Aparat czynnościowy i stymulacja hormonalna <i>Hormonal stimulation + Functional appliance</i>	Tylko aparat czynnościowy lub wstrzykiwanie soli fizjologicznej <i>Functional appliance alone or saline injection</i>

Stimulation of mandibular growth in animal model studies. Literature review

Metoda stymulacji wzrostu żuchwy <i>Method of mandibular growth stimulation</i>	Wyniki <i>Results</i>
Stymulacja mechaniczna <i>Mechanical stimulation</i>	Ekspresja genów COL2, COL10 i ALP była niska przy 50 kPa i osiągnęła swój szczyt przy 150 kPa, zmniejszając się przy 200 kPa. Ultrastruktura chondrocytów była następująca: przy 100 kPa komórki były powiększone i miały większe jądro; przy 200 kPa komórki skurczyły się i komórki ulegały procesowi apoptozy lub martwicy. <i>The expression of COL2, COL10 and ALP levels were low at 50 kPa and reached their peaks at 150 kPa, decreasing at 200 kPa. The ultrastructure of chondrocytes was as follows: at 100 kPa the cells were enlarged and had larger nuclei; at 200 kPa the cells shrank, there were also cells after apoptosis or necrosis.</i>
Stymulacja mechaniczna <i>Mechanical stimulation</i>	W grupie testowej stwierdzono wzrost wymiaru strzałkowego wyrostka kłykciowego. Skrócenie siekaczy spowodowało przebudowę wyrostka kłykciowego żuchwy spowodowaną zmianami funkcjonalnymi polegającymi na zwiększonej komponentce ruchów protruzyjnych żuchwy podczas żucia. Zmiany funkcjonalne zwiększają również aktywność biochemiczną komórek. <i>In the test group, an increase in the sagittal dimension of the condylar process was found. Shortening of the incisors resulted in remodelling of the condylar process of the mandible caused by functional changes involving protruding of the mandible during chewing. Functional changes also increase the biochemical activity of cells.</i>
Stymulacja mechaniczna oraz lokalna stymulacja hormonalna. <i>Mechanical and local hormonal stimulation</i>	Najlepsze wyniki osiągnięto w grupie połączonej stymulacji hormonalnej z aparatem czynnościowym i tylko aparatem aparatem czynnościowym. Ekspresja białek odpowiedzialnych za wzrost i przebudowę komórek kostnych wyrostka kłykciowego żuchwy znacznie wzrosła. Sama stymulacja hormonalna nie daje zadowalających wyników. <i>The best results were achieved in the group of combined hormonal stimulation with a functional appliance and the functional appliance only. The expression of proteins responsible for the growth and remodelling of condylar bone cells has increased significantly. Hormonal stimulation alone does not give satisfactory results.</i>
Stymulacja mechaniczna oraz lokalna stymulacja hormonalna. <i>Mechanical stimulation and local hormonal stimulation</i>	Podanie czynników wzrostu wraz z użyciem aparatu zwiększyło ekspresję genetyczną MMP-1 i MMP-13 (białka odp. za procesy remodelingu) względem grup kontrolnych. W wynikach brakuje informacji na temat wpływu terapii hormonalnej na zachowanie lub zmiany masy ciała badanych zwierząt. The administration of growth factors along with the use of a mandibular advancement appliance has increased genetic expression of MMP-1 and MMP-13 more than in control groups. The results lack information on the influence of hormonal therapy on the behaviour or weight changes in the animals tested.

Tabela 1. Charakterystyka badań c.d.

Table 1. Characteristics of studies

Autor i rok publikacji <i>Author and year of publication</i>	Rodzaj badania <i>Type of study</i>	Obiekt badań <i>Subject type</i>	Liczebność próby <i>Number of subjects</i>	Czas obserwacji <i>Follow-up duration</i>	Grupa testowa <i>Test group</i>	Grupa kontrolna <i>Control group</i>
Fukaya S. et al. (2013)	RCT	Wpływ podanego lokalnie insulinopodobnego czynnika wzrostu na wzrost komórek chrząstki kłykciowej <i>The effects of locally administered insulin-like growth factor on the growth of condylar cartilage cells</i>	75	10 tyg. <i>10 weeks</i>	Stymulacja hormonalna <i>Hormonal stimulation</i>	Roztwór soli fizjologicznej buforowany fosforanem <i>Phosphate-buffered saline solution</i>
Hoskins W.E. et al. (1997)	Case-control	Wpływ systemowej stymulacji hormonów tarczycy na kostnienie kości żuchwy <i>The effects of systemic thyroid hormones stimulation on mandibular bone ossification</i>	20	40 dni <i>40 days</i>	Stymulacja hormonalna <i>Hormonal stimulation</i>	Brak interwencji <i>No intervention</i>
Jenaly N. Yumol et al. (2018)	RCT randomized controlled clinical trial	Systemowa stymulacja wzrostu kości żuchwy przy różnym stężeniu witaminy D3 <i>Systemic stimulation of mandibular bone growth with different vitamin D3 concentration</i>	60	Ok. 4 miesiące <i>Approx. 4 months</i>	Suplementacja witaminy D3 i wapnia <i>Vitamin D3 and calcium supplementation</i>	Niższe stężenie witaminy D3 i wapnia <i>Lower concentration of Vitamin D3 and calcium</i>

badacze z Federal University of Minas Gerais na 48 samicach myszy C57 (14). W grupie eksperymentalnej u 24 myszy skracano siekacze dolne za pomocą pilnika o 1 mm, powodując zmianę nagryzu pionowego. Piłowanie siekaczy powtarzano co 3 dni przez okres 21 dni, jednocześnie obserwując wagę zwierząt. Przez pierwsze 9 dni waga myszy w grupie eksperymentalnej spadała, a następnie się normalizowała. W badaniu tomograficznym oceniano zmianę kształtu wyrostka kłykciowego. Po zakończonym badaniu stwierdzono wzrost wymiaru strzałkowego wyrostka kłykciowego. Ekspresja genów była badana przez reakcję polimerazy łańcuchowej w czasie rzeczywistym (protokół RT-PCR). Na podstawie badań stwierdzono, że skracanie siekaczy spowodowało remodelowanie wyrostka kłykciowego żuchwy

activity of cells and increased expression of genes of type I collagen (COL I), osteocalcin and osteonectin on the days preceding the next tooth filing procedure, and on day 21 the same levels as in the control group were found. Thus, it has been shown that the mandibular projection causes a change in the expression of genes of the proteins studied (14).

In their latest research, Chinese researchers have studied the synergistic effects of the functional appliance (FA) and growth hormone therapy on the mandibular growth of juvenile rats (15). Forty adult 6-week-old female Wistar rats were randomly divided into four groups (n = 10). Females were chosen because oestrogen has protective and stimulating effects on bone tissue. The control group received a sham treatment (intraabdominal injection of phosphate-buffered

Metoda stymulacji wzrostu żuchwy <i>Method of mandibular growth stimulation</i>	Wyniki <i>Results</i>
Lokalna stymulacja hormonalna <i>Local hormonal stimulation</i>	Nie stwierdzono istotnych różnic w masie ciała, stężeniu ludzkiego IGF-1 w surowicy i grubości tkanek miękkich policzków, w tym mięśni żwaczy między dwiema grupami. Poziom markerów proliferacyjnych w teście immunohistochemicznym był wielokrotnie wyższy po stronie wstrzyknięcia. Sugerowano, że jednostronne wstrzyknięcie IGF-1 do przestrzeni stawowej może służyć jako użyteczna alternatywa dla leczenia asymetrii żuchwy podczas wzrostu. <i>There were no significant differences in the body weight, human IGF-1 serum concentration, and soft tissue thickness of the cheeks including the masseter muscles between 2 groups. The levels of proliferative markers in the immunohistochemical test were many times higher on the injected side. It has been suggested that a unilateral injection of IGF-1 into the condylar cavity could serve as a useful alternative to treating the asymmetry of the mandible during growth.</i>
Systemowa stymulacja hormonalna <i>Systemic hormonal stimulation</i>	Przy odpowiednich stężeniach T3 i T4 odpowiedź komórek nabłonkowych żuchwy na stymulację hormonem wzrostu jest 8 razy wyższa, co objawia się szybszym procesem kalcyfikacji tkanek. <i>At the appropriate concentrations of T3 and T4 the response of epithelial cells in the mandible to growth hormone stimulation is 8 times higher, which is manifested by a faster process of tissue calcification.</i>
Systemowa stymulacja hormonalna <i>Systemic hormonal stimulation</i>	Na podstawie badań stwierdzono, że największe prawdopodobieństwo powstania wady rozwojowej kości ma miejsce przy niskim poziomie podaży wapnia w połączeniu z minimalnie zmniejszonym poziomem względem optymalnej dawki witaminy D3. Niska podaż witaminy D3 chroni kość przed utratą tkanek, nawet przy niskim poziomie wapnia. <i>Based on the research, it was determined that the most significant effect on possible bone malformation is low calcium in combination with the dose of vitamin D3 that is minimally reduced relative to the optimum dose. Low supply of vitamin D3 protects bones against tissue loss, even at low calcium levels.</i>

wynikające ze zmian czynnościowych polegających na wysuwaniu żuchwy podczas żucia. Zmiany czynnościowe powodują także wyższą aktywność biochemiczną komórek i podwyższoną ekspresję genów kolagenu typu I (COL I), osteokalcyny i osteonektyny w dniach poprzedzających kolejny zabieg spiłowania zębów, a w 21. dniu stwierdzono ich jednakowy poziom, jak w grupie kontrolnej. Dowiedziano zatem, że wysunięcie żuchwy powoduje zmianę ekspresji genów badanych białek (14).

Chińscy badacze w najnowszej pracy opisali badanie synergicznego wpływu aparatu czynnościowego (FA) oraz terapii hormonem wzrostu na wzrost żuchwy młodocianych szczurów (15). Czterdzieści dorosłych 6-tygodniowych samic szczurów Wistar podzielono losowo na cztery grupy (n = 10).

saline), the GH group received an intraabdominal injection of recombinant human growth hormone, the FA group was treated only with a functional appliance, and the GH&FA group received therapy with a functional appliance and growth hormone as well. The mandibular growth range in each group was measured quantitatively using CBCT (Fig. 4). Development of condylar cartilage and expression of matrix metalloproteinases -1 and -13 (MMP-1 and MMP-13) and collagen type II and X (Col II and Col X) were assessed using histological and immunological staining techniques. The results of the experiment were as follows: after four weeks, there was a significant increase in the mandibular growth in the FA group compared to the control group. The GH&FA group had statistically significantly longer mandibular

Tabela 2. Punktacja wg skali Jadad do oceny opisu randomizowanych badań klinicznych**Table 2. Scoring according to the Jadad scale for reporting randomized clinical trials**

Autor Author	Wang S. i wsp. (2017)	Patil A. i wsp. (2017)	Fukaya S. i wsp. (2013)	Jenilyn L. Yumol i wsp. (2018)
Zastosowano randomizację Randomization present	1	1	1	1
Zastosowano właściwy sposób randomizacji Appropriate randomization used	1	1	1	1
Zastosowano ślepią próbę Blinding present	1	1	0	0
Prawidłowo zastosowano ślepią próbę Appropriate blinding used	1	1	0	0
Właściwy okres obserwacji odległej u wszystkich pacjentów Appropriate long-term follow-up for all patients	1	1	1	1
Razem Total	5	5	3	3

Wybrano samice z powodu obronnego i stymulującego działania estrogenu na tkankę kostną. Grupę kontrolną poddano leczeniu pozorowanemu (śródbrzusne wstrzyknięcie soli fizjologicznej buforowanej fosforanem), grupa GH otrzymała śródbrzusnie iniekcję rekombinowanego ludzkiego hormonu wzrostu, grupę FA leczono wyłącznie aparatem czynnościowym, a w grupie GH&FA przeprowadzono terapię zarówno aparatem czynnościowym, jak i hormonem wzrostu. Zakres wzrostu żuchwy w każdej grupie mierzono ilościowo przy użyciu CBCT (Ryc. 4). Rozwój chrząstki kłykcia i ekspresję metaloproteinaz macierzy -1 i -13 (MMP-1 i MMP-13) oraz kolagen typu II i X (Col II i Col X) oceniono za pomocą technik barwienia histologicznego i immunologicznego. Wyniki doświadczenia były następujące: po czterech tygodniach nastąpił znaczny wzrost żuchwy w grupie FA, w porównaniu z grupą kontrolną. Grupa GH&FA miała statystycznie istotnie większą długość żuchwy, grubość chrząstki kłykcia i ekspresję MMP-1, MMP-13, Col II i Col X w chrząstce, niż w innych grupach. Grupa GH&FA i grupa GH miały statystycznie znacząco większą wagę, niż FA i grupa kontrolna. Wynikało to wyłącznie z wpływu GH na procesy przebudowywania tkanek w organizmie ssaków, ponieważ nie zauważono odmiennych zachowań dotyczących żywienia w grupach będących pod wpływem terapii hormonalnej. Stwierdzono, że podanie hormonu wzrostu zwiększyło wzrost żuchwy we wszystkich wymiarach (długość, wysokość, grubość) oraz wywołało poszerzenie tkanek części zębodołowej, bez względu na różnicowanie histologiczne. MMP-1 i MMP-13 są ważnymi proteazami w przebudowie chrząstki i mineralizacji. Odpowiadają za kostnienie chrząstek, indukcję powstawania pierwotnych centrów kalcyfikacji oraz tworzenie się małych naczyń podczas procesów regeneracji (rekonstrukcji) kostnej. Zdaniem autorów cytowanego badania konieczne jest

length, condylar cartilage thickness and expression of MMP-1, MMP-13, Col II and Col X in the cartilage compared to other groups. The weight in the GH&FA group and GH group was statistically significantly higher than in the FA and the control groups. This was solely due to the effects of GH on tissue remodelling processes in the body of mammals, as no different feeding behaviour was observed in groups receiving hormonal therapy. It was found that the administration of growth hormone increased the mandibular growth in all dimensions (length, height, thickness) and caused expansion of the alveolar tissues, regardless of histological differentiation. MMP-1 and MMP-13 are important proteases in cartilage remodelling and mineralisation. They are responsible for ossification of cartilage, induction of growth of initial centres of calcification and formation of small vessels during bone regeneration (reconstruction) processes. In the opinion of the authors of the study cited above, further long-term studies are necessary to determine whether it is recommended to take the risk of hormonal therapy to achieve mandibular growth to skeletal class I compared to conventional therapy with a functional appliance (FA), taking into account its long-term effects. The authors of the cited paper suggest that future research should be conducted in the male population as well (15).

Hindu researchers Patil et al. aimed to determine whether the cartilage covering the condylar process would grow under the influence of the functional appliance used to correct class II malocclusion, with simultaneous administration of IGF-1 and transforming growth factor beta (TGF- β) (16). The study was conducted on 24 growing New Zealand rabbits which were divided into three groups:

- control group 1 which received saline injections into the temporomandibular joint;

Stimulation of mandibular growth in animal model studies. Literature review

Tabela 2. Punktacja wg skali Jadad do oceny opisu randomizowanych badań klinicznych
 Table 2. Scoring according to the Jadad scale for reporting randomized clinical trials

Badanie / Study	Warunki / Terms	Li H al. (2017)	Valerio P. et al. (2018)	Hoskins W.E. et al. (1997)
Dobór Selection	Czy grupa badana była odpowiednio zdefiniowana? <i>Is the case definition adequate?</i>	1	1	1
	Reprezentatywność grupy badanej <i>Representativeness of the cases</i>	1	1	1
	Dobór grupy kontrolnej <i>Selection of Controls</i>	1	1	1
	Kryteria doboru grupy kontrolnej <i>Definition of Controls</i>	1	1	1
Porównywalność Comparability	Porównywalność grup badanej i kontrolnej w zakresie prowadzonego badania <i>Comparability of cases and controls on the basis of the design or analysis</i>	2	1	2
		Grupy badana i kontrolna zostały podczas badania poddane tym samym procedurom. Obie grupy charakteryzowała ta sama przynależność rasowa. Wszystkie zwierzęta pochodziły z tego samego miotu. <i>Both test and control group underwent the same process during the study. The race in both groups was the same. All the subjects were from one litter.</i>	Grupy badana i kontrolna zostały podczas badania poddane tym samym procedurom. Obie grupy charakteryzowała ta sama przynależność rasowa. Wszystkie zwierzęta pochodziły z tego samego miotu. Okres obserwacji odległej był zbyt krótki. <i>Both test and control group underwent the same process during the study. The race in both groups was the same. All the subjects were from one litter. However, the follow-up was too short.</i>	Grupy badana i kontrolna zostały podczas badania poddane tym samym procedurom. Obie grupy charakteryzowała ta sama przynależność rasowa. Wszystkie zwierzęta pochodziły z tego samego miotu. <i>Both test and control group underwent the same process during the study. The race in both groups was the same. All the subjects were from one litter.</i>
Wyniki Outcome	Pewność co do ekspozycji na czynnik badany <i>Ascertainment of exposure</i>	1	1	1
	Ta sama metoda zapewnienia pewności ekspozycji (lub braku ekspozycji) na czynnik badany w grupie badanej i kontrolnej <i>Same method of ascertainment for cases and controls</i>	1	1	1
	Odsetek braku odpowiedzi <i>Non-Response rate</i>	Brak opisu <i>No description</i>	Brak opisu <i>No description</i>	Brak opisu <i>No description</i>
	Razem Total	8	7	8

prowadzenie dalszych długofalowych badań, aby stwierdzić, czy warto podjąć ryzyko terapii hormonalnej w celu uzyskania wzrostu żuchwy do I klasy szkieletowej względem terapii konwencjonalnej aparatem czynnościowym (FA), biorąc pod uwagę jej długoterminowe skutki. Autorzy cytowanej pracy sugerują potrzebę przeprowadzania w przyszłości badań także na populacji męskiej (15).

Hinduscy badacze Patil i wsp. postawili sobie za cel ustalenie, czy chrząstka pokrywająca wyrostek kłykciowy będzie rosła pod wpływem aparatu czynnościowego stosowanego do korekty wady klasy II, z jednoczesnym podawaniem IGF-1 i transformującego czynnika wzrostu beta (TGF- β) (16). Badanie przeprowadzono na 24 rosnących nowozelandzkich królikach, które zostały podzielone na trzy grupy:

- I grupa kontrolna, której podano do stawu skroniowo-żuchwowego iniekcję z soli fizjologicznej;
- II grupa, która otrzymała aparat czynnościowy do leczenia wady klasy II;
- III grupa, która otrzymała iniekcję z autakoidów, jak również została poddana leczeniu aparatem czynnościowym.

Do badania ekspresji genów użyto reakcji RT-PCR wspieranej przez histomorfometrię.

IGF-1 jest określany jako istotny czynnik wpływający na różnicowanie i dojrzewanie tkanek, podczas gdy pozostałe czynniki wzrostu często oddziałują na komórki przez regulację ekspresji IGF-1. Pobudza on układy enzymatyczne komórek, stymulując ich podziały warunkujące rozrost tkanek miękkich i kości. IGF-1 jest głównym czynnikiem pośredniczącym w działaniu GH na komórki docelowe, a przede wszystkim na chondrocyty, osteoblasty i komórki gruczołów dokrewnych. Odgrywa znaczącą rolę w zwiększeniu masy kostnej (17) (Ryc. 5).

TGF- β kontroluje proliferację oraz różnicowanie większości typów komórek. Ma także działanie przeciwzapalne. W uproszczeniu, TGF- β zarządza komórkami w trakcie ich rozwoju oraz bierze udział w gojeniu ran (ryc. 5). Materiał do badania pobierano kilkakrotnie w godzinach: 06.00, 09.30, 12.30, 14.00, 16.30, 21.30 i 24.00. Badano podrażnienie tkanek, stan rozwoju somatycznego i ich tolerancję ocenianą na podstawie ilości spożywanego pokarmu oraz wagę ciała.

Podane czynniki wzrostu, wraz z urządzeniami do repulsacji żuchwy, indukowały 5,70-krotną ekspresję metaloproteinazy-1 macierzy (MMP-1) i 1,29-krotną ekspresję MMP-13; z kolei urządzenia do repozycjonowania żuchwy wywoływały 2,33-krotną ekspresję MMP-1 i 0,83-krotną ekspresję MMP-13. Analiza histomorfometryczna wykazała zwiększoną proliferację chrząstki wyrostka kłykciowego w grupie poddanej leczeniu czynnościowemu i grupie iniekcyjnej, w porównaniu do grupy kontrolnej. Wywnioskowano, że podawanie czynników wzrostu, wraz z wykorzystaniem działania aparatu czynnościowego, powoduje zwiększoną ekspresję genów MMP-1 i MMP-13. Wyniki te potwierdzono w histomorfometrii, która wskazuje na wzrost chrząstki wyrostka kłykciowego. Wyjaśnianie mechanizmów kontrolujących rozwój byłoby

- group 2 which received a functional appliance for the treatment of class II malocclusion;
- group 3 which received an injection with autacoids, as well as treatment with a functional appliance.

The RT-PCR reaction supported by histomorphometry was used to test gene expression.

IGF-1 is defined as an essential factor affecting tissue differentiation and maturation, while other growth factors often affect cells by regulating IGF-1 expression. It stimulates enzymatic systems of cells, stimulating their divisions which determine the growth of soft tissues and bones. IGF-1 is the primary mediator of GH actions on target cells, especially chondrocytes, osteoblasts and endocrine gland cells. It plays a significant role in increasing bone mass (17) (Fig. 5).

TGF- β controls proliferation and differentiation of most types of cells. It also has anti-inflammatory effects. In simple terms, TGF- β controls cells during their development and participates in wound healing (Fig. 5). The material for studies was collected several times at 06.00, 09.30, 12.30, 14.00, 16.30, 21.30 and 24.00. Tissue irritation, somatic development and tissue tolerance were examined based on the amount of food consumed and body weight.

The growth factors administered, together with mandibular repositioning devices, induced 5.70-fold expression of matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) and 1.29-fold expression of MMP-13; in turn, a mandibular repositioning device induced 2.33-fold expression of MMP-1 and 0.83-fold expression of MMP-13. Histomorphometric analysis showed increased proliferation of condylar process cartilage in the group receiving functional treatment and injections compared to the control group. It was concluded that the administration of growth factors, together with the use of a functional appliance, resulted in increased expression of MMP-1 and MMP-13 genes. These results were confirmed by histomorphometry which indicates the growth of condylar process cartilage. It would be impossible to explain mechanisms controlling development without knowledge of gene activity. However, the results do not provide information on the effects of hormonal therapy on behaviour or weight changes in tested animals (16).

Japanese researchers, Fukaya et al., in 2017 carried out studies that were complementary to two previously mentioned. These studies assessed the effects of IGF-1 on mandibular development in 3-week-old Jcl:ICR male mice (n = 75) by direct injection of a factor into the right articular space of rats, while placebo was injected into the left one. There were no significant differences in body weight, human IGF-1 serum levels and cheek muscle thickness, including masseter muscles, between the study and control groups. A unilateral injection of IGF-1 caused lateral displacement of the mandible to the opposite side, and a tomographic analysis showed that a unilateral injection of IGF-1 caused endochondral growth in the condyle. In the RT-PCR study, the expression of Col2, Ihh and Runx2 increased significantly

Stimulation of mandibular growth in animal model studies. Literature review

niemożliwe bez wiedzy o aktywności genów. W wynikach brak jednak informacji o wpływie terapii hormonalnej na zachowanie czy zmiany wagi u badanych zwierząt (16).

Japońscy badacze Fukaya i wsp. wykonali w 2017 r. badania uzupełniające do dwóch poprzednio wymienionych. Badania te oceniały wpływ IGF-1 na rozwój żuchwy u 3-tygodniowych myszy rasy Jcl:ICR płci męskiej (n = 75) przez bezpośrednie wstrzyknięcie czynnika w prawą przestrzeń stawową szczurów, podczas gdy w lewą wstrzykiwano placebo. Nie stwierdzono istotnej różnicy w masie ciała, stężeniu ludzkiego IGF-1 w surowicy i grubości tkanki mięśniowej policzków, w tym mięśni żwaczy między grupą badaną a kontrolną. Jednostronne wstrzyknięcie IGF-1 spowodowało przesunięcie boczne żuchwy do strony przeciwległej, a analiza tomograficzna wykazała, że jednostronne wstrzyknięcie IGF-1 wywołało wzrost endochondralny w kłykcio. W badaniu RT-PCR ekspresja Col2, Ihh i Runx2 intensywnie wzrosła w wyniku miejscowego jednostronnego wstrzyknięcia IGF-1. Proliferacyjne markery w badaniu immunohistochemicznym także są wielokrotnie wyższe po stronie poddanej iniekcji. Badacze sugerują jednostronną iniekcję IGF-1 do jamy stawowej żuchwy jako możliwie przydatną alternatywę dla leczenia asymetrii żuchwy podczas okresu wzrostu. Badania te oceniają wpływ terapii hormonalnej na płć męską (oznacza to brak osteoprotekcyjnego działania estrogenów w badanej grupie) oraz wskazują na możliwość uniknięcia ubocznych efektów ogólnoustrojowych przy wstrzykiwaniu bezpośrednio w przestrzeń stawową insulinopodobnego czynnika wzrostu, zamiast powodującego jego zwiększoną produkcję hormonu wzrostu (18).

Hoskins i Asling stwierdzili, że hormon wzrostu nie może działać samodzielnie bez prawidłowego stężenia hormonów tarczycy (19,20). Dowiedli na podstawie badania na szczurach, że przy odpowiednich stężeniach T3 i T4 odpowiedź komórek chrząstki nasadowej w żuchwie na stymulację hormonem wzrostu jest ośmiokrotnie większa, co objawia się szybszym procesem kalcyfikacji (dojrzewania) tej tkanki (Ryc. 6).

Ciekawe wyniki uzyskali badacze z Uniwersytetu Brock w Kanadzie w badaniu przeprowadzonym na czteromiesięcznych żeńskich myszach, które podzielono na cztery grupy, od 12 do 15 myszy, u których stosowano diety o różnych poziomach wapnia i witaminy D3. Strukturę kości oceniali za pomocą tomografii komputerowej. W wieku czterech miesięcy *ex vivo* oceniali kręgi szyjne, strukturę żuchwy, a także poziom witaminy D3 i PTH w surowicy. Obniżenie osobno poziomu wapnia (100 IU/kg), jak i osobno witaminy D3 (2,5 g/kg) nie spowodowało istotnych różnic w rozwoju kości u badanych myszy. Na podstawie badań udało się ustalić, że najwyraźniejszy wpływ na ewentualną malformację kości ma niski poziom wapnia (2,5 g/kg), w połączeniu z dawką witaminy D3 podawaną w ilości nieznacznie poniżej prawidłowej (400 IU). Co ciekawe, niska podaż witaminy D3 chroni kości przed utratą tkanki, nawet przy niskich poziomach wapnia. Możliwym mechanizmem może być zmniejszenie aktywności układu RANK/RANKL prowadzące finalnie do zmniejszenia aktywności osteoklastów (21).

as a result of local unilateral IGF-1 injection. Proliferative markers in immunohistochemical testing are also many times higher on the side receiving an injection. Researchers suggest that a unilateral injection of IGF-1 into the mandibular articular cavity is a possibly useful alternative to treating mandibular asymmetry during the growth period. These studies assess the effects of hormonal therapy on males (this means no osteoprotective activity of oestrogen in the study group) and indicate that systemic side effects can be avoided by injecting an insulin-like growth factor instead of growth hormone causing its increased production directly into the articular space (8).

Hoskins and Asling concluded that growth hormone could not work on its own without correct levels of thyroid hormones (19, 20). They proved, based on a study on rats, that at appropriate T3 and T4 levels the response of epiphyseal cartilage cells in the mandible to stimulation with growth hormone was eight times greater, and it manifests in faster calcification (maturation) of this tissue (Fig. 6).

Interesting results were obtained by researchers from the Brock University in Canada in a study conducted on 4-month-old female mice which were divided into four groups, from 12 to 15 mice each, that followed diets with different levels of calcium and vitamin D3. The bone structure was assessed using computed tomography. At the age of four months, they assessed *ex vivo* cervical vertebrae, the mandibular structure and the serum levels of vitamin D3 and PTH. The reduction of calcium (100 IU/kg) and vitamin D3 (2.5 g/kg) levels separately did not cause significant differences in bone development in the mice studied. The studies have shown that low levels of calcium (2.5 g/kg) combined with a dose of vitamin D3 that is slightly below normal (400 IU) have the most significant effects on possible bone malformation. Interestingly, a low supply of vitamin D3 protects bones from tissue loss, even at low calcium levels. The reduction of the RANK/RANKL system activity leading ultimately to the reduction of osteoclast activity may be a possible mechanism (21).

Summary

The mandible is a bone characterised by complex adaptive mechanisms manifested by the response of bone and cartilage tissues to both mechanical and hormonal stimulation. The cited articles describe the effects of functional changes and synergism of functional changes with hormonal stimulation of growth. Experimental studies should not only be continued but also expanded to other orders of animals. It is possible that in the future they will be used in new methods of treatment of mandibular growth disorders using combined functional and hormonal therapy. Their results could be used in the future to treat class II and III malocclusions and asymmetry.

Podsumowanie

Żuchwa jest kością, którą charakteryzują złożone mechanizmy przystosowawcze objawiające się odpowiedzią tkanki kostnej i chrzęstnej na stymulację zarówno mechaniczną, jak i hormonalną. W cytowanych artykułach opisano wpływ zmian czynnościowych oraz synergizmu zmian czynnościowych ze stymulacją hormonalną wzrostu. Badania eksperymentalne powinny być nie tylko kontynuowane, lecz także rozszerzone na inne rzędy zwierząt. Być może w przyszłości znajdą zastosowanie w nowych metodach leczenia zaburzeń wzrostu żuchwy z wykorzystaniem skojarzonych metod terapii czynnościowej i hormonalnej. Ich wyniki mogłyby być w przyszłości wykorzystane do leczenia wad zgryzu klasy II i III oraz asymetrii.

Piśmiennictwo / References

- Shen G, Darendeliler MA. The adaptive remodeling of condylar cartilage a transition from chondrogenesis to osteogenesis. *J Dent Res* 2005; 84: 691-9.
- Kulewicz M. Craniofacial growth and development. *Acta Clinica* 2002; 2: 168-78.
- Szkarłat B. Częstość występowania asymetrii żuchwy u dzieci w wieku 8 -12 lat wymagających leczenia ortodontycznego. Rozprawa doktorska – Gdański Uniwersytet Medyczny 2016: 11-9.
- Profit WR, Fields HW Jr. *Contemporary Orthodontics*. Czelej 2001: 41-4.
- Graber TM, Rakosi T, Petrovic G. Functional appliances. *Czelej* 2001: 47-80.
- Hans MG, Enlow DH. Age related differences in mandibular ramus growth. *Angle Orthod* 1995; 65: 335-8.
- Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med* 2009; 6: 1000097.
- Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, McQuay HJ. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* 1996; 17: 1-12.
- Wells GA, Shea B, O'Connell D, Peterson J, Welch V, Losos M, Tugwell P. The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of case-control studies in meta-analyses. *Eur J Epidemiol* 2015; 25: 603-5.
- Claudine O, Petrovic A, Stutzmann J. Time-Dependent Effects of a Functional-Type Orthopedic Appliance on the Rat Mandible Growth. *Chronobiology International* 1984; 1: 51-7.
- Petrovic A. Control of postnatal growth of secondary cartilages of the mandible by mechanisms regulating occlusion. *Cybernetic model*. *Trans Eur Orthod Soc* 1974; 1: 69-75
- McNamara JA Jr; Bryan FA. Long-term mandibular adaptations to protrusive function: An experimental study in *Macaca mulatta*. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1987; 92: 98-108.
- Hui L, Linjian H, Qianyang X, Xieyi C, Chi Y, Shaoyi W, Min Z. Study on the effects of gradient mechanical pressures on the proliferation, apoptosis, chondrogenesis and hypertrophy of mandibular condylar chondrocytes in vitro. *Arch Oral Biol* 2017; 73: 186-92.
- Valerio P, Perfeito F, Moura LP, Ribeiro DN, Fernandes SOA, Martins AS, Leite MF. Mandible protraction alters Type I collagen, osteocalcin and osteonectin gene expression in adult mice condyle. *Ann Stomatol* 2018; 8: 95-103.
- Wang S, Ye L, Li M, Zhan H, Ye R, Li Y, Zhao Z. Effects of growth hormone and functional appliance on mandibular growth in an adolescent rat model. *Angle Orthod* 2018; 88: 624-31.
- Patil A, Sable R, Kothari R. Genetic expression of MMP-Matrix-metallo-proteinases (MMP-1 and MMP-13) as a function of anterior mandibular repositioning appliance on the growth of mandibular condylar cartilage with and without administration of Insulin like growth factor (IGF-1) and Transforming growth factor-B (TGF-β). *Angle Orthod* 2012; 82: 1053-9.
- Filus A, Zdrojewicz Z. Insulinopodobny czynnik wzrostu-1 (IGF-1) – budowa i rola w organizmie człowieka. *Pediatr Endocrinol Diabetes Metab* 2014; 22: 161-9.
- Fukaya S, Kanzaki H, Miyamoto Y, Yamaguchi Y, Nakamura Y. Possible alternative treatment for mandibular asymmetry by local unilateral IGF-1 injection into the mandibular condylar cavity: Experimental study in mice. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2017; 152: 820-9.
- Hoskins WE. Influence of growth hormone and thyroxine on endochondral osteogenesis in the mandibular condyle and proximal tibial epiphysis. *J Dent Res* 1997; 56: 509-17.
- Bassett J, Duncan H, Graham WR. Role of Thyroid Hormones in Skeletal Development and Bone Maintenance. *Endocr Rev* 2016; 37: 135-87.
- Yumul JL, Wakefield CB, Sacco SM, Sullivan PJ, Comelli EM, Ward WE. Bone development in growing female mice fed calcium and vitamin D at lower levels than is present in the AIN-93G reference diet. *Bone Rep* 2018; 8: 229-38.