

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO-BICOCCA

Dipartimento di Chirurgia e Medicina Traslazionale

Dottorato di Ricerca in Parodontologia Sperimentale



INGEGNERIA TISSUTALE E RIGENERAZIONE OSSEA:
BIOMATERIALI A CONFRONTO NELLA PRESERVAZIONE
DELLA CRESTA ALVEOLARE

Coordinatore: Prof. Renato Maria GAINI

Tutor: Dott. Gianluigi CACCIANIGA

Tesi di Dottorato di :

Dott. Alessio Paiusco

Matr. n. 071799

Ciclo XXVI - Anno Accademico 2013-2014

*Ai miei genitori,
per il sostegno sempre mostrato*

Un sentito ringraziamento al Dott. Gianluigi Caccianiga, per i consigli e il sostegno che sapientemente e con costanza ha saputo darmi aiutandomi a completare questo cammino impegnativo.

INDICE

INTRODUZIONE 5

Alterazioni del processo alveolare conseguenti ad estrazione dentaria 5

Strategie rigenerative 18

Biomateriali per la rigenerazione ossea 19

Classificazione dei biomateriali per la rigenerazione ossea 24

Osso autologo 25

Osso allogenico 29

Osso allogenico omologo 30

Osso allogenico eterologo 32

Osso alloplastico 33

Fattori di crescita 37

Proteine della matrice dello smalto o amelogenine 37

Concentrati piastrinici 38

Cellule staminali 44

PARTE SPERIMENTALE 50

Razionale scientifico 50

Obiettivo dello studio 51

Disegno dello studio 51

Popolazione dello studio 52

Parametri clinici e radiografici 53

Terapia pre-chirurgica 53

Preparazione della PRF 53

Terapia Chirurgica 54

Gestione post-operatoria 54

Valutazioni post-operatorie 55

Caso clinico 57

Risultati 65

Discussione 69

INTRODUZIONE

Con il miglioramento delle tecniche chirurgiche, dei materiali e delle conoscenze la terapia implantare è virata da una procedura anatomicamente guidata ad una protesicamente guidata. In passato i chirurghi erano soliti decidere di posizionare gli impianti dove c'era una sufficiente quantità di osso al fine di garantire un successo a lungo termine degli impianti osteointegrati. Tuttavia questa procedura poteva portare a due tipi di problematiche: uno estetico e uno meccanico. Da un punto di vista estetico, la terapia implantare non pianificata con una guida protesica, poteva determinare un non allineamento tra il collo implantare e il profilo di emergenza della corona del dente. Da un punto di vista meccanico, il posizionamento di un impianto dovrebbe idealmente avvenire lungo la direzione della forza di carico del dente o del gruppo di denti da riabilitare onde evitare rischi di sovraccarico e riassorbimento osseo perimplantare.

Grazie alle tecniche chirurgiche e ai biomateriali oggi disponibili è possibile ricostruire tridimensionalmente zone edentule atrofiche dei mascellari; tuttavia una sempre maggior attenzione negli ultimi anni è stata posta alle procedure di preservazione della cresta alveolare, che possono ridurre notevolmente il riassorbimento osseo conseguente all'estrazione di un elemento dentario e, talune volte, evitare di ricorrere a procedure più invasive di ricostruzione ossea.

Alterazioni del processo alveolare conseguenti ad estrazione dentaria

Le alterazioni che si verificano a livello del processo alveolare in seguito all'estrazione di un elemento dentario possono essere divise in due serie di eventi correlati, denominati processi intra-alveolari e processi extra-alveolari.

Processi intra-alveolari

La guarigione degli alveoli post-estrattivi in volontari è stato studiato da Amler (1969) e da Evian (1982). Amler descrisse che, in seguito all'estrazione di un elemento dentario, le prime 24 ore sono caratterizzate dalla formazione di un coagulo ematico nell'alveolo. Nell'arco di 2-3 giorni il coagulo viene gradualmente sostituito da tessuto di granulazione. Dopo 4-5 giorni, l'epitelio dei tessuti molli ai margini della ferita inizia a proliferare per coprire il tessuto di granulazione all'interno dell'alveolo. Una settimana dopo l'estrazione, l'alveolo contiene tessuto di granulazione, tessuto connettivo giovane con formazione di tessuto osteoide nella porzione apicale. Dopo 3 settimane, l'alveolo contiene tessuto connettivale e ci sono segni di mineralizzazione del tessuto osteoide. L'epitelio copre la ferita. Dopo 6 settimane di guarigione, la formazione di osso nell'alveolo è pronunciata e trabecole dell'osso neoformato possono essere osservate. Lo studio di Amler fu di breve durata, così poté valutare solo gli eventi verificatisi nella porzione marginale dell'alveolo post-estrattivo. I suoi dati sperimentali non includevano l'importante fase successiva della guarigione dell'alveolo che comprendono i processi di modellamento e rimodellamento del tessuto neoformato in varie parti dell'alveolo. Quindi, la composizione tissutale di tutto il sito estrattivo guarito non fu documentata nello studio.

I risultati di un recente studio a lungo termine sul cane (Cardaropoli, 2003) possono essere impiegati per spiegare in maniera più dettagliata le varie fasi della guarigione dell'alveolo, inclusi i processi di modellamento e rimodellamento. In seguito allo scollamento di un lembo vestibolare e linguale a tutto spessore, sono state estratte le radici distali dei premolari mandibolari. I lembi mucosi sono stati posizionati al fine di ottenere una copertura con i tessuti molli dell'alveolo post estrattivo. La guarigione del

sito è stata monitorata mediante prelievi biotici ad intervalli di tempo tra 1 giorno e 6 mesi.

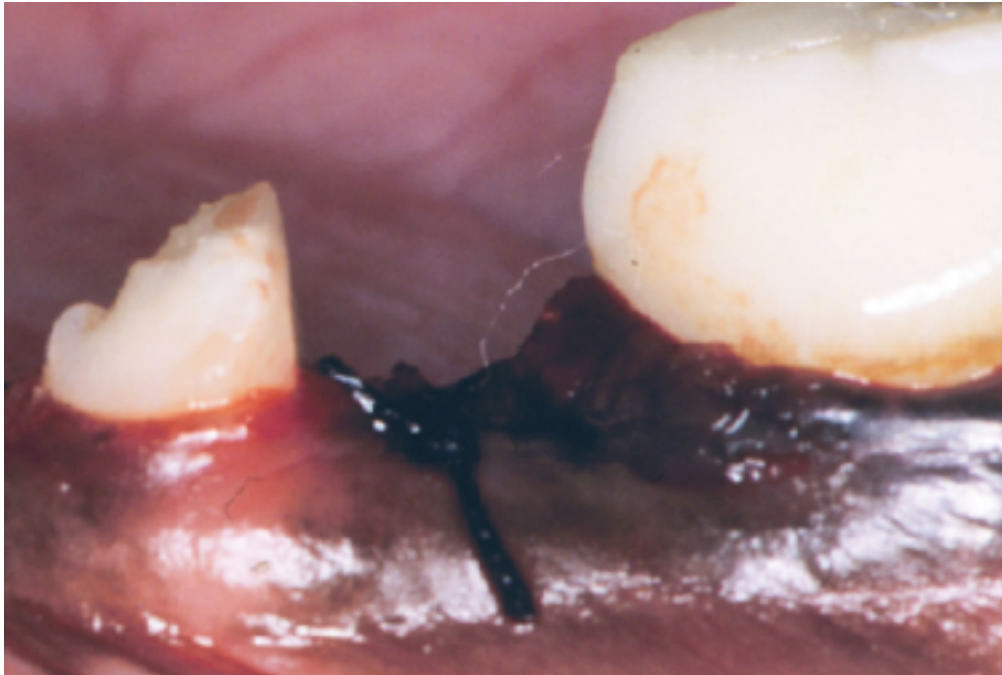


Fig. 1 Modello animale impiegato nello studio di Cardaropoli (2003)

Eventi importanti nella guarigione dell'alveolo

Coagulo ematico

Immediatamente dopo l'estrazione di un dente, il sangue proveniente dai numerosi vasi circostanti riempie la cavità. Le proteine derivanti dai vasi e dalle cellule danneggiate danno il via a una serie di eventi che portano alla formazione di una rete di fibrina. Le piastrine si aggregano tra loro e interagiscono con la rete di fibrina formando un coagulo ematico che effettivamente esercita pressione sui vasi e ferma il sanguinamento. Il coagulo agisce come una matrice fisica che dirige i movimenti cellulari e contiene sostanze di grande importanza per il successivo processo di guarigione. Quindi, il coagulo contiene sostanze che influenzano le cellule staminali (ad es. i fattori di crescita) e che stimolano l'attività delle cellule

infiammatorie. Tali sostanze indurranno quindi e amplificheranno la migrazione di vari tipi di cellule nella ferita, così come la loro proliferazione, differenziazione e l'attività di sintesi all'interno del coagulo. Sebbene il coagulo sia cruciale nella fase iniziale di guarigione della ferita, la sua rimozione è obbligatoria per consentire la formazione di nuovo tessuto. Perciò, nell'arco di pochi giorni dopo l'estrazione di un elemento dentario, il coagulo inizierà a disgregarsi attraverso un processo di fibrinolisi.

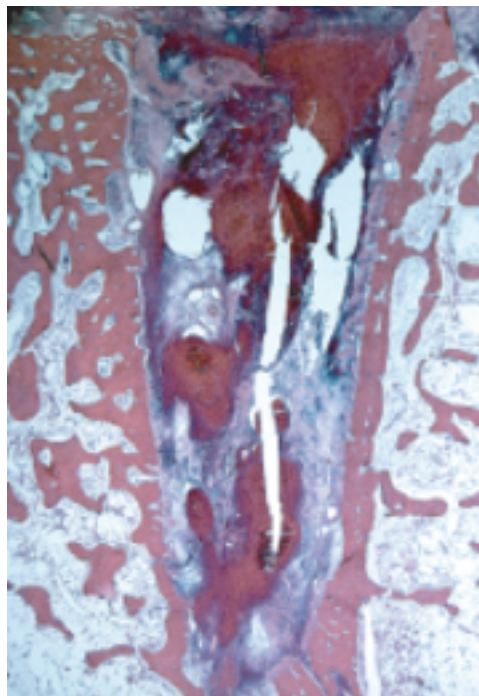


Fig. 2 Formazione del coagulo ematico

Pulizia della ferita

I neutrofili e i macrofagi migrano nella ferita, fagocitano i batteri e il tessuto danneggiato e puliscono il sito prima che la formazione di nuovo tessuto possa partire. I neutrofili entrano nella ferita velocemente mentre i macrofagi appaiono successivamente. I macrofagi non sono impegnati solo nella pulizia della ferita ma rilasciano anche fattori di crescita e citochine

che promuovono ulteriormente la migrazione, proliferazione e differenziazione delle cellule mesenchimali. Una volta che i detriti sono stati rimossi e la ferita è diventata “sterile”, i neutrofili vanno incontro ad apoptosi e sono rimossi dal sito mediante l’azione dei macrofagi. Quest’ultimi successivamente migrano dalla ferita.

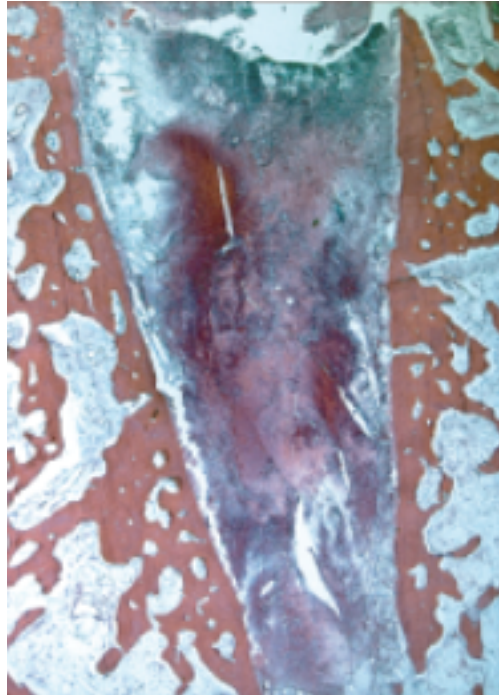


Fig. 3 Pulizia della ferita

Formazione di nuovo tessuto

Gemme di strutture vascolari (dal legamento parodontale profondo) così come cellule mesenchimali simili a fibroblasti (dal legamento parodontale e dalle adiacenti regioni del midollo osseo) entrano nell’alveolo. Le cellule mesenchimali iniziano a proliferare e depositano componenti della matrice in sede extra-cellulare; un nuovo tessuto, il tessuto di granulazione, sostituisce gradualmente il coagulo. Il tessuto di granulazione contiene a volte macrofagi e un gran numero di cellule simili a fibroblasti così come numerosi vasi sanguigni neoformati. Le cellule simili a fibroblasti continuano a rilasciare fattori di crescita, a proliferare e a depositare una

nuova matrice extra-cellulare che guida la crescita di cellule addizionali e permette l'ulteriore differenziazione del tessuto. I vasi neoformati forniscono l'ossigeno e i nutrienti necessari al crescente numero di cellule che si trovano nel nuovo tessuto. Si viene così a creare un tessuto connettivale provvisorio dalla combinazione della fibroplasia (sintesi di componenti della matrice dalle cellule mesenchimali) e della neoangiogenesi (formazione di nuovi vasi). La transizione del tessuto connettivale provvisorio a tessuto osseo avviene lungo le strutture vascolari. Quindi, le cellule osteoprogenitrici (periciti) migrano e si radunano in vicinanza dei vasi. Esse differenziano in osteoblasti che producono una matrice di fibre collagene secondo un pattern intrecciato. Si è quindi formato l'osteoido. Il processo di mineralizzazione inizia all'interno dell'osteoido. Gli osteoblasti continuano a depositare osteoidi e occasionalmente tali cellule rimangono intrappolate all'interno della matrice e diventano osteociti. Questo osso neoformato è denominato osso intrecciato.

L'osso intrecciato è il primo tipo di osso ad essere formato ed è caratterizzato dalla sua rapida deposizione come proiezioni digitali lungo i vasi, la matrice collagenica scarsamente organizzata, il gran numero di osteoblasti che sono intrappolati nella sua matrice mineralizzata e la sua bassa capacità portante. Le trabecole di osso intrecciato circondano i vasi e diventano più spesse attraverso la deposizione di altro osso intrecciato. Le cellule (osteociti) rimangono intrappolate nel tessuto osseo e si viene così a organizzare la prima serie di osteoni, gli osteoni primari. L'osso intrecciato è occasionalmente rinforzato dalla deposizione del cosiddetto osso a fibre parallele, che ha le sue fibre di collagene organizzate secondo un pattern non intrecciato ma concentrico. Durante questa prima fase di guarigione il tessuto osseo delle pareti dell'alveolo (l'osso propriamente detto) viene rimosso e sostituito con osso intrecciato.

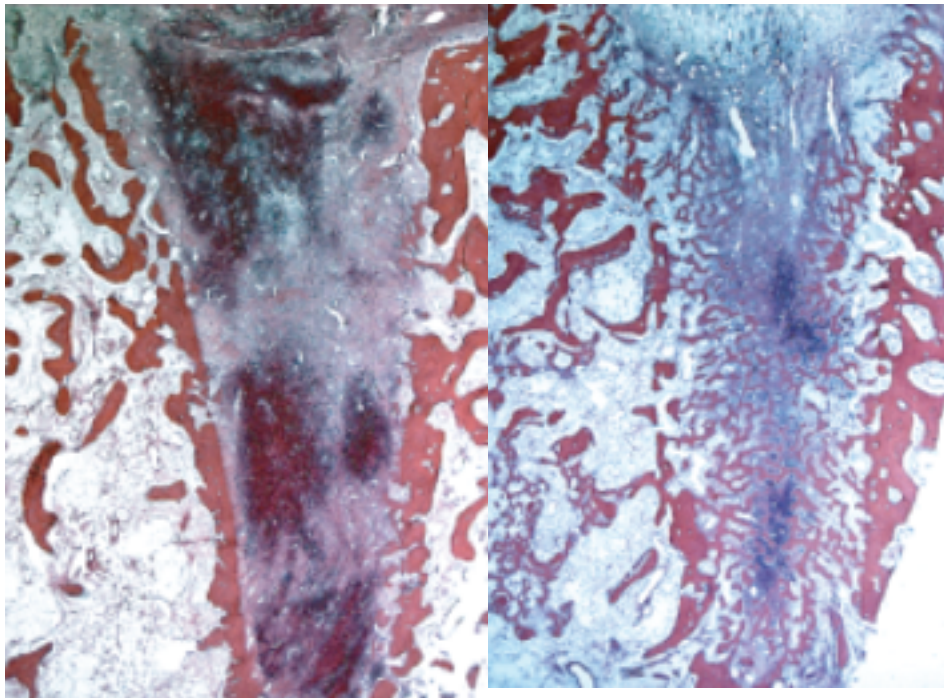


Fig. 4-5 A sinistra formazione di tessuto di granulazione, a destra formazione di tessuto connettivo e osteoide

Modellamento e rimodellamento osseo

L'iniziale formazione di osso è un processo rapido. Nell'arco di poche settimane, l'intero alveolo post estrattivo viene riempito di osso intrecciato o, come anche viene chiamato, di spongiosa ossea primaria. L'osso intrecciato offre un'impalcatura stabile, una superficie solida, una fonte di cellule osteoprogenitrici e un ampio apporto ematico per le funzioni cellulari e la mineralizzazione della matrice.

L'osso intrecciato con i suoi osteoni primari è gradualmente sostituito da osso lamellare e da midollo osseo. In questo processo, gli osteoni primari sono sostituiti da osteoni secondari. L'osso intrecciato è inizialmente riassorbito fino a un certo livello, il quale stabilirà la cosiddetta linea di inversione, che corrisponde anche al livello dal quale si formerà nuovo osso con osteoni secondari. Sebbene questo rimodellamento può iniziare presto durante la guarigione dell'alveolo, necessiterà di diversi mesi finché tutto

l'osso intrecciato nell'alveolo post estrattivo sarà sostituito da osso lamellare e midollo osseo.

Una parte importante della guarigione dell'alveolo comprende la formazione di una cappa di tessuto duro che chiuderà l'entrata marginale dell'alveolo. Tale cappa è inizialmente formata da osso intrecciato ma è successivamente rimodellata e sostituita da osso lamellare che entra in continuità con la corticale alla periferia del sito edentulo. Questo fenomeno prende il nome di corticalizzazione.

La ferita è ora guarita, ma il tessuto nel sito continuerà ad adattarsi agli stimoli funzionali. Dal momento che non c'è stress da forze esercitate durante la masticazione e altri contatti occlusali non c'è stimolo sull'osso mineralizzato nelle aree precedentemente occupate dal dente. Perciò la porzione apicale della cappa di tessuto duro si rimodellerà prevalentemente in midollo. Infatti, in molti pazienti edentuli l'intera cresta alveolare si riassorbirà come risultato del continuo adattamento all'assenza di funzione.

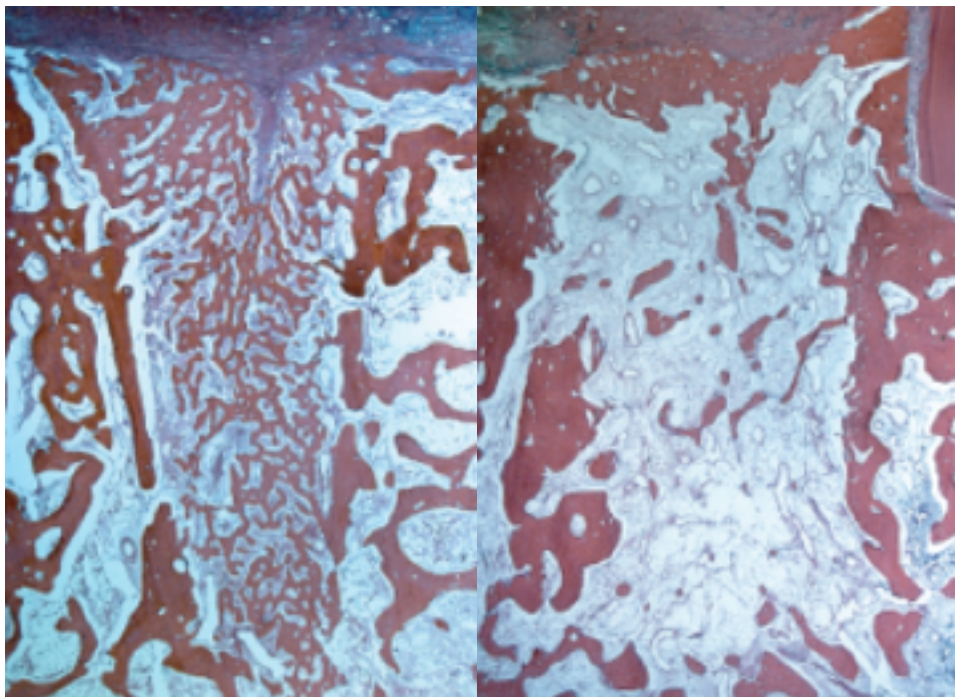


Fig. 6-7 A sinistra formazione di osso intrecciato, a destra rimodellamento osseo

Processi extra-alveolari

In un esperimento sui cani (Araùjo & Lindhe 2005), sono state attentamente esaminate le alterazioni nel profilo della cresta edentula verificatisi successivamente all'estrazione dentaria. In questo studio i terzi e quarti premolari mandibolari sono stati sezionati. Sono stati scollati lembi vestibolari e linguali e le radici distali sono state accuratamente rimosse. I lembi sono stati riposizionati e suturati al fine di coprire l'alveolo post estrattivo. sono stati effettuati prelievi biotici, incluso un alveolo post estrattivo individuale e le radici adiacenti, a 1,2,4 e 8 settimane di guarigione. I blocchi sono stati sezionati sul piano bucco-linguale.

- 1 settimana dopo l'estrazione: a questo intervallo l'alveolo è occupato da un coagulo. Inoltre, un alto numero di osteoclasti possono essere visti sia all'esterno che all'interno delle pareti ossee vestibolare e linguale. La presenza di osteoclasti sulla superficie interna delle pareti dell'alveolo indica che l'osso propriamente detto è in fase di riassorbimento.

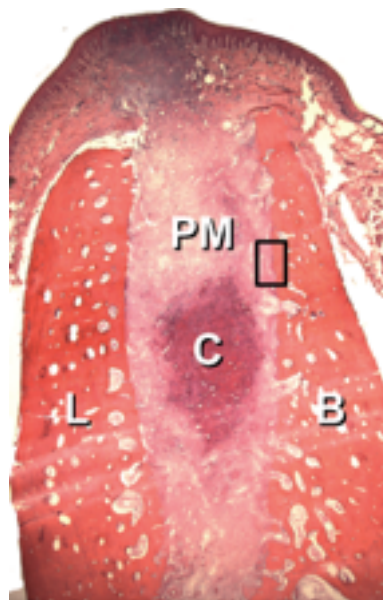


Fig. 8 Alveolo post estrattivo a 1 settimana (L linguale, B vestibolare, C coagulo ematico, PM matrice provvisoria)

- 2 settimane dopo l'estrazione: osso immaturo neo formato (osso intrecciato) si trova nella parte apicale e laterale dell'alveolo, mentre le porzioni più centrali e marginali sono occupate da un tessuto connettivale provvisorio. Nelle porzioni marginali ed esterne delle pareti dell'alveolo numerosi osteoclasti possono essere visti. In molte parti delle pareti dell'alveolo l'osso propriamente detto è stato sostituito dall'osso intrecciato.

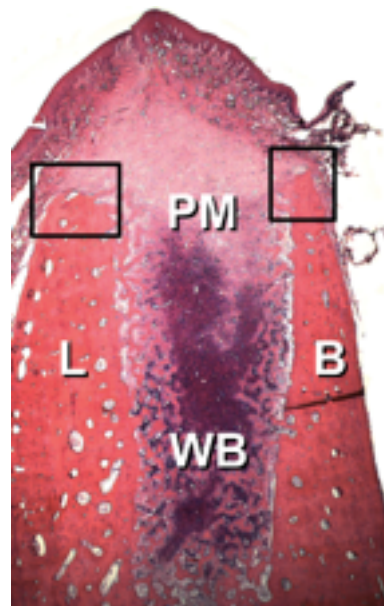


Fig. 9 Alveolo post estrattivo a 2 settimane (L linguale, B vestibolare, WB osso intrecciato, PM matrice provvisoria)

- 4 settimane dopo l'estrazione: L'intero alveolo è occupato da osso intrecciato in questa fase della guarigione. Alti numeri di osteoclasti sono presenti nelle porzioni esterne e marginali delle pareti di tessuto duro. Gli osteoclasti sono allineati inoltre lungo le trabecole di osso intrecciato presente nella parte centrale e laterale dell'alveolo. L'osso intrecciato neoformato è in fase di sostituzione con un tipo più maturo di osso.

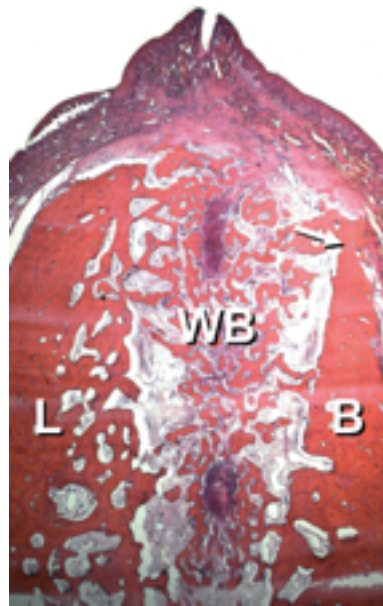


Fig. 10 Alveolo post estrattivo a 4 settimane (L linguale, B vestibolare, WB osso intrecciato)

- 8 settimane dopo l'estrazione: uno strato di osso corticale copre l'ingresso del sito post estrattivo. La corticalizzazione è avvenuta. L'osso intrecciato che era presente nell'alveolo a 4 settimane è sostituito con midollo osseo e alcune trabecole di osso lamellare. All'esterno e in cima alla parete ossea linguale e vestibolare ci sono segni di riassorbimento osseo in atto. La cresta della parete ossea vestibolare è localizzata apicalmente rispetto alla sua controparte linguale.

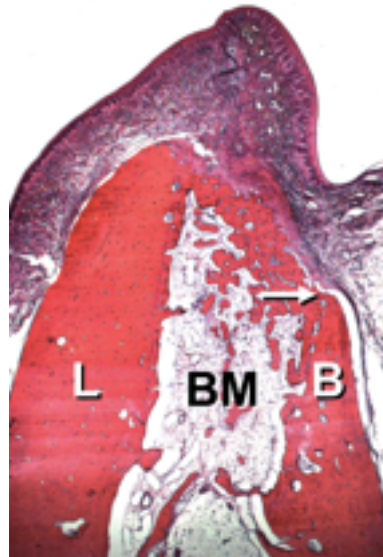


Fig. 11 Alveolo post estrattivo a 8 settimane (L linguale, B vestibolare, BM midollo osseo)

Le relative modifiche nella localizzazione della cresta alveolare nel versante vestibolare e linguale che si verificano durante le 8 settimane di guarigione sono illustrate in figura 12.

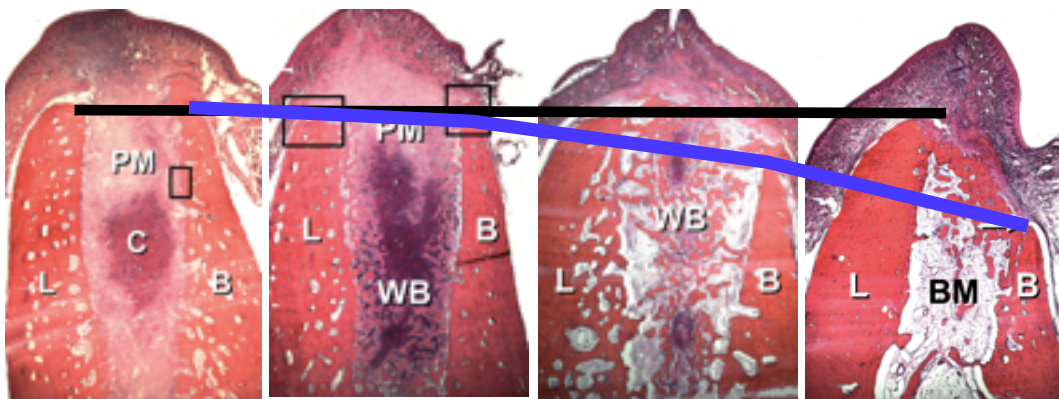


Fig. 12 Sezioni istologiche buccali-linguali che descrivono i profili delle regioni edentule nel modello animale a 1,2,4 e 8 settimane di guarigione dopo estrazione dentaria

Mentre il margine della parete linguale è rimasto pressoché invariato, il margine della parete vestibolare è migrato di diversi millimetri in direzione apicale.

Ci sono almeno due motivi per cui, in questo modello animale, si è verificata una maggior perdita ossea sul versante vestibolare rispetto a quello linguale durante la guarigione dell'alveolo. Come primo aspetto, prima dell'estrazione dentaria, 1-2 millimetri marginali della cresta ossea vestibolare erano occupati da osso propriamente detto mentre una frazione minore della cresta linguale conteneva osso propriamente detto. L'osso propriamente detto è un tessuto che dipende dalla presenza dei denti e scompare gradualmente dopo estrazione dentaria. Perciò, dal momento che c'è relativamente più osso propriamente detto nella cresta ossea vestibolare rispetto a quella linguale, la perdita di tessuto duro sarà più pronunciata nell'aspetto vestibolare. In secondo luogo, la cresta ossea linguale dell'alveolo è marcatamente più spessa di quella vestibolare. È ben conosciuto dalla letteratura parodontale che l'elevazione di un lembo parodontale e la separazione del periostio dal tessuto osseo causa un riassorbimento della superficie ossea esposta; ciò risulta in una maggior contrazione verticale della sottile cresta vestibolare rispetto a quella linguale.

Quindi, come descritto precedentemente, il processo di modellamento e rimodellamento che si verifica in seguito all'estrazione di un elemento dentario esita in un pronunciato riassorbimento delle varie componenti della cresta alveolare. Il riassorbimento della parete ossea vestibolare è più pronunciato rispetto alla parete linguale, di conseguenza il centro della cresta si sposterà in direzione linguale/palatale. In casi estremi, l'intero processo alveolare può essere perso in seguito a estrazione o perdita dell'elemento dentario; in queste situazioni rimane solo l'osso basale della mandibola e della maxilla.

Strategie rigenerative

In generale, la rigenerazione di nuovi tessuti richiede l'uso di biomateriali che possono essere identificati in tre diverse categorie (Fig. I-1):

- impalcature (scaffold)
- fattori di crescita
- cellule

Ognuno di questi elementi gioca un ruolo di fondamentale importanza nel processo di guarigione in fasi temporalmente interconnesse. Nelle terapie rigenerative convenzionali le cellule devono raggiungere la zona dove il nuovo tessuto deve essere generato, migrando dalla periferia della sede di innesto.

Gli scaffold sono utilizzati sia come supporto alla migrazione cellulare sia come impalcature per la deposizione della matrice organica. Diversi tipi di scaffold sono comunemente usati nella chirurgia orale e parodontale come ad esempio l'osso autologo o i sostituti ossei da innesto.

La migrazione e la differenziazione cellulari sono regolate e stimolate da fattori di crescita, che modulano l'attività cellulare e forniscono lo stimolo alle cellule a differenziarsi e produrre la matrice per lo sviluppo dei tessuti. I fattori di crescita stimolano anche la produzione di segnali angiogenici, che inducono la formazione di una nuova rete vascolare, essenziale per il funzionamento delle cellule quale fonte di nutrienti e ossigeno e quale via di rimozione dei cataboliti. I tentativi di integrazione di fattori di crescita in odontoiatria risalgono all'introduzione del plasma ricco di piastrine (PRP) e del plasma ricco in fattori di crescita (PRGF).

Le tecniche di terapia cellulare, infine, forniscono un'ulteriore fonte di cellule nell'area di interesse. Invece di dipendere completamente dalla capacità delle cellule dell'organismo ospite per la rigenerazione di un nuovo tessuto e per la produzione di fattori di crescita, le cellule innestate

sono pronte alla produzione di nuovi tessuti e permettono un rilascio costante di citochine durante le varie fasi della guarigione.

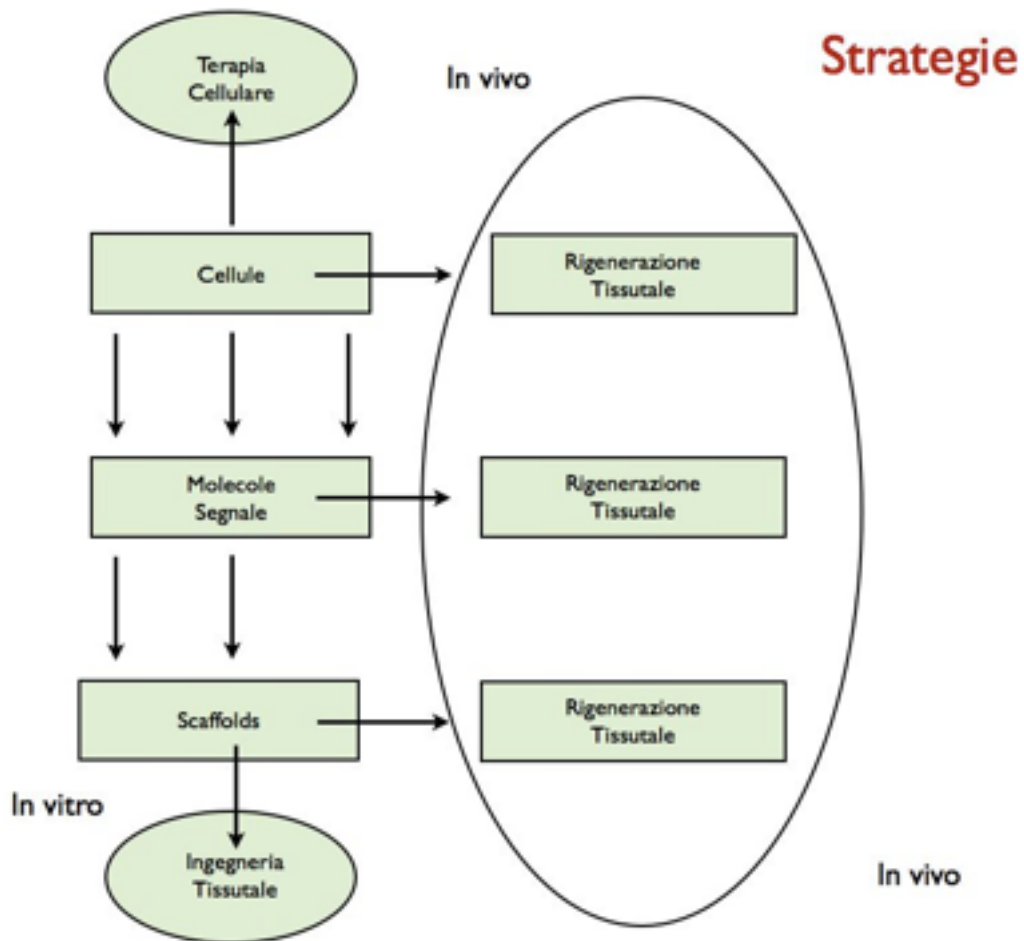


Fig. 13 Strategie rigenerative nell'ingegneria tissutale

Biomateriali per la rigenerazione ossea

I biomateriali possono essere considerati una pietra miliare delle grandi rivoluzioni terapeutiche del XX secolo.

Viene definito “biomateriale” qualsiasi materiale, di origine naturale o sintetica, estraneo all’organismo ricevente (uomo o animale) e impiantato al

fine di ripristinare la morfologia e/o la funzione di tessuti o organi lesi da traumatismi, malformazioni o patologie degenerative (Muster, 1987).

La peculiarità di questi materiali sta nel fatto che la loro azione si deve esplicare sotto stimolo biologico, senza dover essere metabolizzati per essere attivi. Attuano il loro effetto terapeutico principale senza un'azione chimica, differenziandosi per questo dai farmaci. Per le loro caratteristiche, modalità d'azione e di impiego sono costantemente argomento di studio e di dibattito delle scienze mediche, biologiche, ingegneristiche, giuridiche, politiche e socio-economiche.

Nel 1999, Muschler e Lane hanno definito un materiale da innesto osseo come un qualsiasi materiale impiantato in un sito chirurgico che, da solo o in associazione ad altri materiali, sia in grado di promuovere la rigenerazione ossea tramite le sue proprietà osteoinduttive, osteoconduttive, osteogenetiche e di bioattività (Muschler e Lane, 1999).

Gli innesti ossei, associati o meno all'utilizzo di membrane, rappresentano i primi biomateriali impiegati in odontoiatria nel campo dell'ingegneria tissutale. Si tratta di strutture biologiche che possiedono proprietà che permettono loro di attecchire al letto osseo ricevente. Queste proprietà sono: l'osteogenesi, l'osteoiduzione e l'osteconduzione.

Osteogenesi: così si definisce la capacità di neogenesi ossea insita nell'innesto, che non dipende dalla sede donatrice. Le cellule che hanno queste capacità provengono da periostio nel 25-30%, dalla zona intracorticale nel 20-30% e dal midollo osseo nel 40-60%.

Osteoinduzione: così si definisce la capacità dell'innesto di indurre la differenziazione di cellule mesenchimali pluripotenti, che possono provenire dal sia dal sito ricevente sia dal circolo, in osteoblasti, stimolando in tal modo la neogenesi ossea a livello dell'innesto e a carico della sede ricevente. L'osso innestato è in grado di indurre questa differenziazione per l'esistenza di precursori cellulari nell'innesto osseo che, sopravvissuti al danno anossico provocato dal distacco dalla sede donatrice e grazie al precoce apporto ematico nutrizionale, si differenziano in osteoblasti. Inoltre concorre al processo la liberazione di proteine morfogenetiche (BMP) che partecipano al metabolismo osseo, da parte dell'innesto stesso.

Osteoconduzione: si definisce osteoconduzione la capacità dell'osso innestato di formare un supporto strutturale alla formazione di nuovo osso.

Bioattività: è la capacità di un materiale da innesto di formare apatite o carbonato idrossiapatite, alla sua superficie consentendone l'adesione ossea

Il successo di un biomateriale dipende soprattutto da tre fattori fondamentali: l'insieme delle sue proprietà fisiche, chimiche e biologiche, lo stato di salute dell'organismo e della sede ricevente, e le capacità del chirurgo che esegue l'innesto e ne controlla l'evoluzione del postoperatorio. Il biomateriale da rigenerazione ossea inserito nell'organismo esplicherà la sua azione sotto stimoli biologici (Muster, 1987): subirà sia un attacco chimico da parte dell'organismo sia un'aggressione meccanica le cui entità e modalità di estrinsecazione sono strettamente dipendenti dalle caratteristiche del sito ricevente (compressioni e tensioni muscolari legate principalmente alle sollecitazioni generate dai movimenti funzionali di lingua e guance durante la fonazione, la masticazione e la deglutizione). Queste aggressioni del biomateriale, siano esse di tipo chimico o

meccanico, potranno indurre una considerevole riduzione della stabilità del materiale innestato che porterà a un più o meno importante riassorbimento.

La stabilità del materiale da innesto è anche strettamente legata alle sue caratteristiche di riassorbibilità che lo rendono più o meno idoneo per l'utilizzo in un determinato sito, e compatibile con il tipo di chirurgia che viene svolta e con il successivo piano terapeutico previsto.

Materiali a rapido riassorbimento saranno quindi più indicati nella gestione della guarigione di lacune in regioni edentule che andranno in breve tempo riabilite con terapie implanto-protetiche, che necessitano di osso vitale per l'osteointegrazione. In questo caso le tempistiche di riassorbimento del biomateriale, fino alla sua completa sostituzione con tessuto osseo neoformato, hanno l'esigenza di essere contenute e affidabili. Nel caso, invece, di lacune ossee a contatto con le radici che verranno mantenute in arcata (caso di cisti radicolari), o in presenza di lesioni osteolitiche in regioni che non necessitano di riabilitazioni implantari (cisti nella branca montante mandibolare), il biomateriale può avere caratteristiche di assorbibilità molto più lenta.

I biomateriali possono essere utilizzati per due funzioni principali. La prima funzione viene attuata come una vera e propria modulazione della riparazione ossea, che segue un danno chirurgico, stimolando un tessuto che già di per sé ha attivato dei processi riparativi attraverso meccanismi osteoclastici e osteoblastici. L'innesto, integrando il coagulo, riduce il rimodellamento dei bordi della lacuna e ne accelera la guarigione contribuendo a formare un tessuto vitale che verrà comunque completamente sostituito da osso maturo in tempi molto variabili. Il vero successo dell'innesto nel breve tempo, 3-6 mesi, è che riduce la perdita ossea limitando il collasso dell'osso residuo. Questa azione è particolarmente visibile nell'alveolo postestrattivo. La seconda funzione dei biomateriali prevede l'impiego di un innesto da ancorare a una base ossea

atrofica con pochi stimoli riparativi verso la neoformazione di osso. In questi casi, il biomateriale non si comporta solo da riempitivo e in modo da contribuire a ridurre la perdita ossea, ma attuerebbe anche una induzione della rigenerazione ossea. Mentre la prima funzione è raggiungibile con tutti i biomateriali, con solo variabili temporali sulla maturazione ossea definitiva, la seconda funzione è molto più complessa e, per condurre a una formazione di osso maturo stabile, necessita di proprietà osteogenetiche dirette, come quelle possedute dall'osso autologo, o indirette, per l'aggiunta di BMP o fattori di crescita.

Le caratteristiche di un biomateriale devono essere il più simili possibile alle proprietà del tessuto osseo, per essere sostituite in tempi più o meno lunghi. Il migliore materiale sarà quindi quello che meglio interagirà con i processi di rimaneggiamento e guarigione ossea.

Parikh ha proposto una classificazione che suddivide i biomateriali secondo le proprietà che esplicano sull'osso (Parikh, 2002), che viene riportata nella tabella 1.

| Proprietà | Descrizione | Classe |
|--|--|---|
| ► Osteoconduzione | Fornisce una struttura rigida su cui può essere formato nuovo osso | Ceramiche, polimeri sintetici, collagene |
| ► Osteogenesi | Processo di formazione di nuovo osso, attuata dagli osteoblasti | Aspirato di osso midollare |
| ► Osteoinduzione | Induce la trasformazione delle cellule staminali mesenchimali negli elementi delle linee cellulari dell'osso | Matrice di osso liofilizzato, BMP, fattori di crescita |
| ► Tutte (osteogenesi, osteoinduzione, osteoconduzione) | Promuove una o più delle proprietà precedentemente descritte | Compositi (biomateriali associati tra loro e contenenti, o meno, BMP o fattori di crescita) |

Tab.1 Classificazione dei biomateriali secondo le proprietà che esplicano sull'osso proposta da Parikh

Un materiale da innesto ideale dovrebbe possedere le seguenti caratteristiche:

- biocompatibilità senza antigenicità
- capacità osteogeniche
- osteoinduttività
- osteoconduttività
- facile reperibilità
- facoltà di essere eliminato dall'organismo ricevente e sostituito da osso neoformato
- facilità di manipolazione
- qualità strutturali ottime
- rischio di infezione basso
- alta affidabilità
- buon rapporto costi/benefici

Classificazione dei biomateriali per la rigenerazione ossea

I materiali da innesto osseo possono essere suddivisi in autologhi (da siti donatori intra- o extraorali del paziente), allogenici (da osso umano o animale) e alloplastici (da altre fonti). I materiali alloplastici si suddividono a loro volta sulla base della loro origine: i materiali di sintesi sono quindi anche organici (come il PLA-PGA) (Nasr et al., 2000). Nella tabella 2 vengono riportate le diverse classi di materiali disponibili per la rigenerazione ossea.

| Osso umano | | | |
|--------------|--|--|-------------------------------|
| BIOMATERIALI | ▶ Osso autogenico (autologo) | | |
| | Osso umano | | |
| | ▶ Osso allogenico omologo | Osso allogenico congelato fresco | |
| | | Osso allogenico liofilizzato | |
| | | Osso allogenico liofilizzato demineralizzato | |
| | Osso animale | | |
| | ▶ Osso allogenico eterologo (xenogenico) | Idrossiapatite di derivazione animale | |
| | Sostituti ossei | | |
| | ▶ Ceramiche | Naturali | Carbonato di calcio corallino |
| | | Sintetiche | Fosfato tricalcico |
| | | Idrossiapatite | |
| | | Vetri bioattivi | |
| ▶ Polimeri | | | |

Tab.2 Classificazione dei materiali per innesto

Osso autologo

L'osso autologo, anche se rappresenta il parametro di confronto per tutti i biomateriali, non può essere considerato un biomateriale vero e proprio perché si tratta di tessuto prelevato da una sede e trasferito in un'altra nello stesso individuo. Gli innesti di osso autologo sono considerati in letteratura il gold standard, questo perché l'osso autologo esercita contemporaneamente una funzione osteogenetica, osteoinduttiva e osteoconduttiva (Silva et al., 2006; Orsini et al., 2003; Gamradt e Lieberman, 2003; LeGeros, 2002; Bernard, 1991; Cushing, 1969; Burwell, 1964).

I maggiori svantaggi che l'utilizzo di osso autologo comporta sono legati alla limitata quantità di osso disponibile per il prelievo, dipendente dalle caratteristiche anatomiche dimensionali del sito donatore, e alla necessità di un secondo sito chirurgico nello stesso individuo (Silva et al., 2006).

Quest'ultimo aspetto comporta anche un aumentato rischio di complicanze postoperatorie, l'indebolimento della regione donatrice e un disagio

postoperatorio maggiore per il paziente (LeGeros, 2002). È proprio per ovviare a questi svantaggi che la ricerca scientifica si è da sempre indirizzata verso il reperimento di biomateriali che potessero sostituirsi al meglio all'osso autologo avvicinandosi il più possibile alle sue caratteristiche.

Va comunque considerato che un innesto di osso autologo si comporta come un tessuto necrotico che in tempi non conosciuti passa da uno stadio iniziale di riassorbimento parziale a uno stadio tardivo di “impalcatura” per la formazione di nuovo osso. Se correttamente manipolato, la sopravvivenza cellulare e la rivitalizzazione dell'innesto *in situ* sono possibili (Zaffe e D'Avenia, 2007).

La sopravvivenza degli osteociti dipende dalla presenza di un supporto nutritivo efficiente localizzato a una distanza inferiore a 0,1 mm.

Alcuni studi hanno mostrato come gli innesti ossei intramembranosi (calvaria e mandibola), se confrontati con gli innesti ossei endocondrali (cresta iliaca), mostrino un riassorbimento osseo minimo e una migliore incorporazione da parte del sito ricevente (Zins e Whitaker, 1983; Borstlap et al., 1990). L'osso di origine membranosa, infatti, è costituito maggiormente da osso corticale con ridotta midollare rispetto all'osso di origine endocondrale: la differenza nella composizione permette all'osso membranoso di riassorbirsi meno rispetto all'osso endocondrale proprio per la maggiore presenza di corticale ossea. Più recentemente alcuni Autori hanno confermato come il riassorbimento osseo dell'innesto prelevato dalla calvaria sia significativamente inferiore rispetto all'innesto da cresta iliaca. Queste considerazioni suggeriscono come le origini embriologiche siano responsabili delle metodiche e tempistiche di riassorbimento; comunque va tenuto conto che la microarchitettura (rapporto tra osso corticale e osso midollare) rappresenta la determinante maggiore nel mantenimento del

volume degli innesti ossei (Ozaki e Buchman, 1998; Rosenthal e Buchman, 2003).

L'osso corticale innestato possiede una limitata vascolarizzazione per cui le cellule di rivestimento dell'osso, le cellule endostali e le cellule periostali non sono in grado di sostenere la vitalità cellulare.

La porzione midollare degli innesti ossei ha un'importante funzione di stimolazione di crescita delle cellule osteogenetiche, gli innesti midollari sono molto più vascolarizzati rispetto agli innesti corticali: la combinazione di osso corticale e midollare degli innesti promuove la vascolarizzazione precoce e il mantenimento dell'innesto stesso (Barone e Covani, 2007).

L'osso midollare ha una probabilità maggiore di supportare la vitalità cellulare non solo per la maggiore possibilità di diffusione di nutrienti provenienti dal sito ricevente, ma anche per la rivascularizzazione dal letto ricevente (Hallman e Thor, 2000).

Gli innesti di osso autologo possono essere eseguiti sotto due modalità strutturali: a blocco e particolato ("chips").

Gli innesti a blocco, che sono normalmente costituiti da uno strato esterno di osso corticale e da uno strato interno di osso midollare, devono essere rigorosamente stabilizzati, con placche e viti, sull'osso residuo del sito ricevente. Gli innesti di particolato possono essere utilizzati da soli, quando la cavità permette la stabilizzazione (rialzo di seno mascellare), o associati a membrane o griglie in titanio.

I "bone chips" hanno il ruolo di mantenitori di spazio e di guida per la rigenerazione ossea (attraverso l'osteoconduzione), agiscono come supporto per i fattori di crescita per accelerare la guarigione ossea (Schlegel et al., 2003; Artzi et al., 2006). Durante il periodo di guarigione, i chips sono sostituiti da osso attraverso i processi di rimodellazione. I chips di osso autologo possono essere raccolti facilmente in svariati modi, dalla superficie delle frese (ma questo tipo di osso viene poi riassorbito

velocemente e non può soddisfare il ruolo di mantentore di spazio), alle moderne tecniche con la Piezosurgery®. Possono anche derivare da innesti prelevati a blocco e tritati con appositi strumenti in una seconda fase.

Le particelle dovrebbero avere un certo volume: clinicamente le particelle di 500 µm o superiori mostrano risultati migliori. Sembra che particelle di dimensioni inferiori ai 200 µm conducano a un rapido riassorbimento dei frammenti innestati, non garantendo osteoconduttività sufficiente per la nuova formazione ossea nel sito ricevente. Al contrario, i frammenti ossei di dimensioni maggiori di 1 mm necessitano di una lenta incorporazione e di maggiore tempo di guarigione; è stato dimostrato come le dimensioni maggiori determinino una ridotta attività osteogenetica e una lenta rivascularizzazione (Marciani et al., 1979; Enneking et al., 1980). Tuttavia, le dimensioni ideali del materiale innestato non sono state ancora chiarite e i valori riportati in letteratura non sono uniformi (Pallesen et al., 2002).

Per valutare correttamente le risposte biologiche ai diversi biomateriali, è necessario conoscere le risposte che l'organismo promuove nei confronti dell'innesto di osso autologo al fine di poterle paragonare sia dal punto di vista del tempo di rivitalizzazione, che per la qualità e la quantità del tessuto neoformato.

Nell'innesto di osso autologo, dopo l'intervento chirurgico si verifica una fase di invasione del coagulo e di infiammazione. La fase infiammatoria nell'immediato post-chirurgico è indipendente dal materiale da innesto, ma associabile all'intervento chirurgico. Dopo la prima settimana il processo infiammatorio diminuisce e la zona viene invasa dal tessuto di granulazione, con aumento dell'attività osteoclastica. Il sito innestato viene nuovamente vascolarizzato e invaso dai precursori degli osteoblasti. La formazione di nuovi vasi determina l'inizio del riassorbimento dell'innesto osseo, mentre più o meno contemporaneamente inizia anche la formazione di nuovo osso. Alcuni fattori di crescita, le BMP (*Bone Morphogenetic*

Protein), sono attivi a partire dalla prima settimana dopo l'innesto, inducendo la migrazione delle cellule mesenchimali nell'innesto osseo: queste cellule si differenziano successivamente in osteoblasti e iniziano la formazione di nuovo osso. Le fasi di infiammazione, rivascolarizzazione e osteoinduzione si verificano rapidamente e di solito sono in equilibrio dinamico. La contemporanea attività di riassorbimento e di formazione ossea si verifica all'interno dell'osso innestato durante le prime 4 settimane dall'intervento chirurgico. La maggior parte della midollare viene sostituita da osso neoformato in 3 mesi.

L'integrazione dell'innesto viene considerata completata in circa 6 mesi dall'intervento chirurgico: l'innesto viene completamente riassorbito e sostituito da nuovo tessuto osseo. La maturazione completa del tessuto si raggiunge in presenza di adeguato carico meccanico, entro 1 anno dall'intervento (Goldberg e Stevenson, 1987).

Osso allogenico

L'osso allogenico è un osso midollare e/o corticale che proviene da individui della medesima specie (osso omologo) o di specie diversa (osso eterologo, xenogenico).

L'osso allogenico, paragonato all'osso autologo, viene incorporato più lentamente. La fase iniziale infiammatoria è simile in entrambi i materiali da innesto, ma alla fine della seconda settimana, a differenza dell'autologo, si attua una risposta dell'ospite con l'invasione dell'innesto da parte di cellule mononucleate principalmente di tipo immunitario. Questa fase immunitaria sembrerebbe annullare l'importante fase di osteoinduzione che porta all'incorporazione più rapida del materiale innestato. Segue un'iniziale crescita di nuovi vasi sanguigni, rapidamente circondati da cellule infiammatorie che non solo interrompono questa crescita, ma

conducono a una rapida e progressiva necrosi dell'innesto. La fase di incorporazione caratterizzata da osteoinduzione e la successiva osteoconduzione non hanno il successo riscontrato nell'innesto autologo: questa sembra essere fortemente limitata dalla risposta immunologica scatenata nell'organismo ospite.

In sintesi, l'incorporazione dell'osso autologo è caratterizzata da una rapida rivascularizzazione, ma anche dal riassorbimento dell'innesto osseo. L'incorporazione dell'osso allogenico avverrebbe più lentamente di quella dell'innesto di osso autologo a causa di inefficienti fasi di osteogenesi, osteoinduzione e osteoconduzione (Goldberg e Stevenson, 1987).

Osso allogenico omologo

L'osso omologo è un osso midollare e/o corticale umano trattato per eliminare la maggior parte della componente tessutale delle cavità midollari, infine sterilizzato con metodi fisico-chimici.

In Europa esistono diversi Centri di donazione come la *Banca dei Tessuti Muscolo-scheletrici* (BTM) in Italia, la United Kingdom Transplant Services Authority (UKTSA) in Gran Bretagna, l'Établissement Français des Greffes (EFG) in Francia, l'Organizacion Nacionales de Trasplantes (ONT) in Spagna e la *Bio Implant Services Foundation* (BIS) in Olanda. Questi centri concentrano la loro attività nello Stato in cui sono dislocati e scambiano regolarmente tra loro i dati riguardanti la richiesta e la disponibilità degli organi (AATB, 1996; Katler e de By, 1997; Revised, 1997).

Per quanto riguarda la donazione del tessuto osseo, l'espianto viene eseguito in una sala operatoria entro 24 ore dalla morte del donatore. Vengono eseguiti dei prelievi sanguigni e ossei per documentare l'eventuale grado e il tipo di contaminazione batterica: organismi con bassa patogenicità sono stati riscontrati nel 50% degli innesti, mentre quelli ad

alta patogenicità nel 3% dei casi (Denkers et al., 1997; San Julian e Valenti, 2006). Dopo l'espianto, l'innesto osseo viene trattato per eliminare la maggior parte della componente tessutale delle cavità midollari, infine viene sterilizzato con metodi fisico-chimici. Dopo tutte queste procedure, l'osso allogenico è immesso in contenitori plastici, corredati dei dati clinici del donatore, e conservati a una temperatura di $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Friedlaender e Horowitz, 1992). Nonostante il trattamento che elimina moltissimo materiale, componenti dei tessuti molli possono permanere soprattutto nelle cavità meno accessibili come quelli nei pressi della corticale. Questi materiali di solito vengono eliminati subito dopo l'innesto, tuttavia sono da tenere in considerazione, soprattutto se in discreta quantità, per i loro effetti antigenici.

L'osso allogenico può essere utilizzato fresco, congelato (FFBA, *Fresh-Frozen Bone Allograft*), liofilizzato (FDBA, *Freeze-Dried Bone Allograft*) o decalcificato liofilizzato (DFDBA, *Demineralized Freeze-Dried Bone Allograft*). Il rischio immunogenico e di infezione crociata ne riducono comunque l'impiego in odontoiatria (Lord et al., 1988). Il materiale maggiormente trattato è il DFDBA che con il suo riassorbimento dovrebbe agire da osteoinduttore liberando molecole con proprietà osteoinduttrici.

Al contrario, una volta innestato, mineralizza per la maggior parte e quindi si comporta da osteoconduttore.

Da tenere in considerazione che il DFDBA non rimineralizzato e/o tutto il materiale liberato dopo erosione dall'osso omologo innestato, può manifestare reazioni antigeniche che potranno causare effetti indesiderati, in particolare in pazienti ipersensibili. L'osso fresco congelato manifesta maggiore antigenicità rispetto a quello congelato e liofilizzato e a quello decalcificato congelato e liofilizzato (Friedlaender e Horowitz, 1992). L'osso allogenico omologo viene fornito in svariate forme e dimensioni: osso particolato, osso in blocchi e osso in svariate forme anatomiche.

Osso allogenico eterologo

L'osso eterologo o xenogenico è un osso midollare e/o corticale che proviene da esemplari di specie animale.

L'osso animale non può essere utilizzato direttamente come materiale da innesto a causa della sua antigenicità, per cui deve subire dei trattamenti che eliminino la potenzialità antigenica. Nel passato era quasi esclusivamente prodotto da osso bovino (Bio-Oss®), ma con lo scoppio della BSE (*Bovine Spongiform Encephalopathy*) ci fu uno stimolo a una produzione da osso equino (Bio-Gen®) (Wenz et al., 2001). Quest'ultimo ha dato alcuni risultati clinicamente e istologicamente poco soddisfacenti, per cui si è tornati alla produzione di materiale da bovini BSE-free certified (Bio-Oss®, Tutodent®, viti in osso bovino Sterling).

L'osso xenogenico, per essere utilizzato, viene adeguatamente trattato, spesso con processi non noti a causa di copyright, per asportarne la componente organica e che quindi modificano lievemente (iper calcificazione) l'osso di partenza.

Osso alloplastico

I materiali per innesto alloplastici sono materiali di sintesi e/o naturali privi di attività osteoinduttiva, riassorbibili o non riassorbibili, biocompatibili, bioinerti, bioattivi con proprietà osteoconduttive.

La ricerca scientifica si è da sempre indirizzata verso il reperimento di biomateriali che potessero sostituirsi al meglio all'osso autologo, avvicinandosi il più possibile alle sue caratteristiche, senza gli svantaggi propri degli innesti autologhi o allogenici o xenogenici. In alternativa all'uso di questi tipi di innesto sono stati sviluppati materiali di sintesi e/o naturali, denominati materiali alloplastici.

Nel 1996, durante il World Workshop in Parodontologia, i materiali alloplastici sono stati definiti come riempitivi dei difetti ossei, privi di attività osteoinduttiva (Annals of Periodontology, 1996). Si tratta di materiali riassorbibili o non riassorbibili con caratteristiche di biocompatibilità (capacità di essere accettato in un ambiente biologico), bioinerzia (causano una minima risposta flogistica), e bioattività (capacità di creare legami stabili nel tempo con il tessuto osseo). Delle caratteristiche del materiale da innesto ideale i materiali alloplastici possiedono solo la capacità osteoconduttiva.

Per essi, tuttavia, è stato coniato il termine osteointegrazione che è la capacità di venire avvolti, totalmente o meno, dall'osso dell'ospite.

Negli anni sono stati impiegati in via sperimentale e/o introdotti in commercio numerosi materiali profondamente diversi tra loro: metalli, polimeri, carbonati di calcio, fosfati di calcio di origine naturale o sintetico, vetri bioattivi, compositi di polimeri e di fosfato di calcio ecc. (LeGeros, 2002).

I materiali alloplastici, e quindi in senso lato i biomateriali, possono essere suddivisi in tre grandi categorie: materiali metallici e loro leghe, materiali

non metallici e materiali polimerici. I metalli sono materiali inadatti alla rigenerazione ossea. Nella scienza dei materiali, tutti i materiali solidi inorganici e non metallici sono classificati come ceramiche. Alle tre categorie sopra indicate ne può essere aggiunta una quarta, quella dei materiali compositi, cioè quella di materiali formati dalla unione di più materiali, ad esempio l'unione di poli-tetra-fluoro-etilene (PTFE), più noto con il nome di teflon, con fibre di carbonio pirolitico. I compositi possono anche derivare dall'unione di biomateriali di sintesi con composti naturali, come ad esempio i componenti tessutali (collagene, fibrina, glicosamminoglicani ecc.) (Tabella 2).

Da un punto di vista meccanico i materiali alloplastici dovrebbero possedere caratteristiche biomeccaniche simili a quelle dell'osso corticale/spugnoso che vanno a sostituire, con un modulo di elasticità analogo a quello dell'osso per evitare gli stress e presentare una resistenza tale da evitare fratture in seguito a continui carichi masticatori (Moore et al., 2001). Il gruppo di materiali alloplastici che più si avvicina alla composizione minerale e alle proprietà dell'osso è il gruppo dei ceramici fosfatici (Le Geros, 2002; De Groot, 1983).

Nel 2003 Piattelli pubblicò uno studio che aveva l'obiettivo di valutare istologicamente il comportamento di diversi materiali alloplastici a confronto con l'osso autologo e l'omologo, utilizzati nell'uomo in interventi di grande rialzo del seno mascellare, cercando di evidenziare la quantità e la qualità dell'osso rigenerato. Nello studio sono state utilizzate 6 carote ossee per ogni biomateriale e i prelievi sono stati eseguiti dopo 6-8 mesi dall'innesto. Da questo studio emerge che, in tutti i prelievi esaminati, è stata osservata la presenza di osso neoformato e che il Fisiograft® è risultato essere il materiale più riassorbibile, seguito dal solfato di calcio, dai biovetri, dal Biocoral®, dall'idrossiapatite, dal PepGen P-15®, dal Bio-Oss® e dall'osso demineralizzato (DFDBA) (Piattelli, 2003).

Nel 2006 Scarano e collaboratori in uno studio simile hanno confrontato diversi materiali alloplastici nel rialzo di seno mascellare e l'osso autologo. I risultati hanno evidenziato che la formazione di nuovo osso era maggiore nell'innesto di osso autologo, seguito dal carbonato di calcio, dal solfato di calcio e dal Bio-Oss® e che l'osso neoformato dopo l'innesto di Fisiograft®, degradato più velocemente rispetto agli altri materiali utilizzati, era soprattutto trabecolare (Scarano et al., 2006).

Sempre in uno studio di confronto tra biomateriali, nel 2008 Busenlechner e collaboratori hanno eseguito una ricerca in vivo per valutare il comportamento del Bio-Oss® (idrossiapatite di derivazione bovina), dell'Ostim® (idrossiapatite nanocristallina in forma di pasta) e dell'Osteoinductal® (un gel di carboidrati/acidi grassi esterificati contenente in sospensione calcio idrossido). I materiali sono stati applicati, sotto coppette di titanio di 10 mm di diametro, a contatto con difetti ossei creati superficialmente nella calvaria di minipig e sono stati confrontati con difetti non trattati con alcun materiale. I difetti non trattati sono risultati parzialmente riempiti con osso, delimitato da una zona di osso midollare o una zona fibrosa. Il Bio-Oss® ha esplicitato le proprie proprietà osteoconduttive: il difetto era parzialmente riempito da osso dopo 6 settimane e totalmente riempito dopo 12. L'Ostim®, in seguito a degradazione, è stato quasi completamente sostituito da tessuto osseo e da vasi sanguigni. L'Osteoinductal®, neanche dopo 12 settimane, è stato in grado di stimolare la formazione di nuovo osso è stata infatti osservata la formazione di solo tessuto connettivo associato a un grave riassorbimento osseo (Busenlechner et al., 2008).

| Categoria | Gruppo | Origine | Tipo | Composizione | Nome | | |
|--------------------------|---------------|--------------------------|----------------|--|---|---------------------------------------|-----------------------------|
| ► Polimeri | | S | NR | 1 PE | Polietilene | | |
| | | | | 2 PTFE | Teflon Gore-Tex® | | |
| | | | | 3 PMMA | Bone cement | | |
| | | | | 4 PHEMA | Glicole metacrilato | | |
| | | R | 5 PLA | Acido polilattico | | | |
| | | | 6 PLA-PGA | Fisiograft® Vicryl® | | | |
| ► Ceramici | Non fosfatici | N | R | 1 CaCO ₃ | Biocoral® (corallo) Bionacre® (madreperla) | | |
| | | | | 2 CaSO ₄ · ½H ₂ O | Solfato di calcio | | |
| | | S | NR | 3 Al ₂ O ₃ | Allumina | | |
| | | S | NR | 4 ZrO ₂ | Zirconia | | |
| | Fosfatici | N/S | NR | 1 HA da corallo | Interpore | | |
| | | | | 2 HA da osso | Bio-Oss® Bio-Gen® | | |
| | | S | NR-R | 3 HA Ca ₅ (PO ₄) ₃ OH | Alveograft® | | |
| | | | | | Bioapatite® | | |
| | | | | | Calcitite® | | |
| | | | | | Ceros® 80 Osteogen® Ostim® | | |
| | | S | R | 4 TCP Ca ₃ (PO ₄) ₂ | Tricalciofosfato Cerasorb® Ceros® 82 | | |
| | | | | | S | R | 5 Ca/P/Si/Na e modifiche |
| S | NR | 6 Ca/P/Si/Al e modifiche | Vetroceramiche | | | | |
| ► Compositi o miscele | | | | S | NR | 1 PE-HA | HAPEX |
| | | | | S | NR | 2 PTFE-CaCO ₃ | Proplast® |
| | | | | S | R | 3 PHEMA-PMMA/CaOH | HTR |
| | | | | S | NR | 4 HA-TCP | Triosite |
| | | | | N/S | NR | 5 Collagene-HA | Cerapatite-Collagene |
| | | | | N/S | NR | 6 Collagene-HA Glicosamminoglicani | Biosite® |
| | | | | N/S | R | 7 Collagene-TCP | Calciresorb-Collagene |

N, naturale; NR, non riassorbibile; R, riassorbibile; S, sintetico; PTFE, Poli Tetra-Fluoro-Etilene; PMMA, Poli Metil-MetAcrilato; PHEMA, Poli Idrossi-Etil MetAcrilato; PLA, Poli Lattico Acido; PLA-PGA (PLG), copolimero Poli Lattico Acido-Poli Glicolico Acido

Tab. 2 Classificazione dei materiali alloplastici

Fattori di crescita

I fattori di crescita hanno un ruolo determinante nel processo di differenziazione degli osteoblasti a partire da cellule osteoprogenitrici mesenchimali indifferenziate. La loro azione è principalmente di tipo osteoinduttivo ed osteopromotore.

Proteine della matrice dello smalto o amelogenine

L'Enamel Matrix Derivate (EMD) è stato il primo biomateriale introdotto nella terapia rigenerativa parodontale ad avere un'azione «biomimetica», servendosi dell'azione di fattori di crescita secreti durante l'embriogenesi dei tessuti dentali rappresentati dalla amelogenine. L'EMD è costituito da un gel viscoso a basso pH che agisce da mezzo veicolante per le amelogenine che sono idrorepellenti. In virtù dell'azione dei sistemi tampone tissutali, la soluzione veicolante viene neutralizzata nel momento in cui l'EMD viene posizionato nel contesto della ferita parodontale rendendo così le amelogenine insolubili e determinandone la precipitazione sulla superficie radicolare. Quest'ultima deve essere adeguatamente condizionata perché le amelogenine possano formare dei legami stabili: il protocollo di condizionamento radicolare proposto da Blomlof prevede l'uso di EDTA al 24% per 2 minuti seguito da irrigazione per 20 secondi con soluzione salina sterile.

Evidenze scientifiche suggeriscono come le cellule del legamento parodontale esposte al gel di amelogenine mutino il loro fenotipo aumentando l'espressione di un gruppo di geni correlati a fattori di crescita e differenziazione, compreso il fattore β di crescita trasformante (TGF- β).

Studi clinici e istologici dimostrano la capacità dell'EMD di indurre la neoformazione di legamento parodontale; inoltre le cellule aspecifiche del legamento in presenza del gel di amelogenine tendono a cambiare la propria morfologia rendendosi simili ai cementoblasti e favorendo la formazione di nuovo tessuto di supporto. I dati riportati in letteratura sottolineano l'efficacia delle amelogenine nella terapia rigenerativa parodontale con risultati clinici sovrapponibili a quanto è possibile ottenere mediante l'utilizzo di membrane, in termini sia di guadagno di livello di attacco clinico (CAL) che di riempimento radiografico del difetto. Inoltre l'utilizzo delle amelogenine sembra essere associato a una ridotta incidenza di complicanze postoperatorie rispetto ai tradizionali protocolli di GTR.

Concentrati piastrinici

PRP

I concentrati piastrinici furono inizialmente utilizzati per il trattamento e la prevenzione delle emorragie dovute a severa trombopenia. L'uso di questi emoderivati per la chiusura delle ferite e la stimolazione della guarigione è iniziato con le colle di fibrina, descritte per la prima volta 40 anni fa e costituite da fibrinogeno concentrato. Tuttavia, date le limitazioni di questo emoderivato, la ricerca nel campo dei concentrati piastrinici è proseguita nei decenni successivi, arrivando all'identificazione all'inizio degli anni '90 del PRP.

Il plasma ricco di piastrine (PRP) è definito come un "concentrato autologo di piastrine in un piccolo volume di plasma" ed è considerato essere una ricca fonte di fattori di crescita autologhi (64-66). Il PRP è ottenuto dalla centrifugazione di sangue intero, da cui viene isolata la componente piastrinica concentrata. Le piastrine, che in questo modo raggiungono la

concentrazione del 300% nei siti dove il PRP viene innestato, contengono numerosi fattori di crescita, quali il PDGF, TGF beta, PDEGF, PDAF, IGF-1, PF-4, che stimolano l'angiogenesi, la crescita di cartilagine, la produzione di matrice ossea, la replicazione delle cellule staminali osteogeniche, tutti eventi importanti che si innescano durante la guarigione di una ferita.

Tra i vantaggi si annovera:

- prevedibilità del risultato elevata;
- versatilità nei metodi di impiego;
- buone capacità rigenerative.

L'efficacia del PRP nella rigenerazione ossea orale è tuttora oggetto di discussione: molti articoli hanno infatti riportato effetti positivi del PRP sulla formazione ossea, mentre altri studi hanno mostrato benefici limitati o assenti. Il razionale scientifico alla base dell'utilizzo del PRP in associazione a innesti ossei si basa sull'ipotesi che l'alta concentrazione di piastrine nel difetto osseo trattato determina un aumento della concentrazione in sito dei fattori di crescita secreti, favorendo di conseguenza i processi riparativi dell'osso. In numerose colture di cellule osteoblastiche o del legamento parodontale il PRP ha mostrato di formare un materiale simile a gel, che si è rivelato essere coaguli di fibrina, in grado di aumentare la sintesi di collagene nella matrice extracellulare. Il fibrinogeno, convertito in fibrina, in combinazione con i fattori di crescita presenti nel PRP, può efficacemente promuovere i processi di guarigione nei siti parodontali trattati. Il PRP inoltre, dato l'alto contenuto di fibrina, presenta caratteristiche viscosi, che gli conferiscono un'azione emostatica e stabilizzante e possono favorire la stabilizzazione del coagulo e dell'innesto osseo nel difetto.

Uno studio recente ha esaminato l'effetto di una combinazione di idrossiapatite e PRP umano sull'osteogenesi in vivo, utilizzando un modello

di guarigione ossea di ratto. Difetti di 10 mm di lunghezza sono stati creati sulle diafisi radiali di 36 ratti e riempiti con idrossiapatite e PRP umano, sola idrossiapatite o lasciati vuoti (gruppo controllo). I risultati hanno mostrato come la combinazione di idrossiapatite e PRP umano ha favorito la rigenerazione ossea in difetti estesi con una capacità rigenerativa rispetto agli altri gruppi. Diversi studi clinici hanno inoltre mostrato l'efficacia del PRP nella rigenerazione ossea e parodontale quando usato in combinazione con innesti ossei. Plachokova (67), in una review sistematica pubblicata nel 2008 sul *Clinical Oral Implant Research*, ha illustrato come tutti gli studi presi in esame mostravano un effetto positivo del PRP nel trattamento dei difetti parodontali e nella preservazione degli alveoli post-estrattivi.

PRGF

Il plasma ricco di fattori di crescita può essere considerato come un'evoluzione della metodica di preparazione del PRP che permette una maggiore concentrazione di fattori di crescita nel preparato. Il prelievo viene eseguito subito prima dell'intervento chirurgico e viene centrifugato una sola volta, dal composto ottenuto si preleva la frazione di plasma di interesse.

A livello clinico addiziono il PRGF con 50 ml di cloruro di calcio al 10% per ogni cc di PRGF ottenuto.

Vantaggi:

- ridotte quantità di sangue prelevato rispetto al PRP
- versatilità nell'utilizzo del prodotto
- procedura relativamente rapida e poco indaginosa

- esclusione tramite centrifugazione della componente leucocitaria (può determinare una reazione fibrinolitica con riduzione dell'attività fibrogenica dei fattori di crescita).

Svantaggi:

- tempi rapidi di formazione del coagulo sanguigno (notevole rapidità operativa)
- problematiche medico-legali di preparazione del prodotto da parte dell'odontoiatra.

Una revisione sull'utilizzo del PRGF di Anitua del 2007 dimostra gli effetti positivi dell'utilizzo di questo prodotto nel processo di rigenerazione dell'osso e dei tessuti molli.

PRF

Al fine di superare le restrizioni correlate all'utilizzo degli emoderivati, è stata sviluppata una nuova famiglia di concentrati piastrinici, che non è né una colla di fibrina né un concentrato piastrinico classico. La fibrina ricca in piastrine (PRF), identificata in Francia da Choukroun e coll. nel 2001, è un concentrato piastrinico di seconda generazione, ampiamente utilizzato per accelerare la guarigione sia dei tessuti molli che duri. È stato definito come un biomateriale di fibrina autologa ricca in piastrine e leucociti (68). I suoi vantaggi rispetto al PRP includono facilità di preparazione e applicazione, costo minimo e assenza di modificazioni biochimiche dal momento che non è richiesta trombina bovina o alcun anticoagulante. Il protocollo di produzione del PRF è mirato ad accumulare piastrine e citochine in un coagulo di fibrina, che combina molti mediatori immunitari e correlati ai processi di guarigione presenti nell'iniziale coagulo di sangue. Il PRF può

essere utilizzato direttamente come un coagulo o in seguito a compressione come una membrana resistente.

Il protocollo proposto da Choukroun è una tecnica semplice, che richiede una centrifuga e un kit per il prelievo composta da una ago a farfalla (24 gauge) e provette da 9 ml. Il sangue venoso viene prelevato nelle provette senza anticoagulante e immediatamente centrifugato, secondo uno dei protocolli proposti in letteratura (Tabella 3)

| Tabella 3. Diversi protocolli di centrifugazione | | |
|--|-------------|------------------------|
| Numero di giri | Tempo (min) | Riferimento |
| 3.000 | 10 | Dohan e coll. 2010 |
| 2.700 | 12 | Raja e Naidu 2008 |
| 2.500 | 10 | Choukroun e coll. 2006 |
| 3.000 | 12 | Tsai e coll. 2009 |

Nell'arco di pochi minuti, l'assenza di anticoagulanti consente l'attivazione della maggior parte delle piastrine presenti nel campione di sangue prelevato dando il via alla cascata della coagulazione. Inizialmente, il fibrinogeno è concentrato nella parte superiore della provetta, finché la trombina sanguigna lo trasforma in un network di fibrina. Il risultato è un coagulo di fibrina contenente piastrine nella parte centrale della provetta, tra lo strato di eritrociti sul fondo e il plasma acellulare nella parte superiore. Tale coagulo è estratto dalla provetta e i globuli rossi ad esso attaccato vengono rimossi e non utilizzati. Il coagulo di PRF viene quindi posizionato sulla griglia della PRF box (Process Ltd., Nizza, Francia), coperto con il compressore e schiacciato. Ciò permette di ottenere una membrana di fibrina autologa in circa un minuto. La PRF Box produce membrane a spessore costante che rimangono idratate per diverse ore e recupera l'essudato del coagulo di fibrina che è ricco nelle proteine vitronectina e

fibronectina. L'essudato raccolto dal fondo del box può essere utilizzato per idratare i materiali da innesto, irrigare i siti chirurgici e conservare gli innesti autologhi. Un'altro modo per ottenere una membrana di PRF è anche quello di comprimere il coagulo di fibrina tra due garze facendo uscire il liquido in esso contenuto.

Il coagulo di fibrina può anche essere posizionato nei cilindri della PRF Box e compresso lentamente con il pistone in dotazione al fine di ottenere dei piccoli dischi spessi con un diametro di circa 1 cm, utili come innesto negli alveoli post estrattivi. A differenza del PRP, il PRF non si dissolve velocemente dopo l'applicazione ma la matrice di fibrina è lentamente rimodellata come avviene a un normale coagulo di sangue. Le piastrine e i leucociti sono raccolti con grande efficacia con questa metodica, che permette la produzione di grandi quantità di coaguli di PRF con semplicità e bassi costi, rendendola adatta anche a chirurgie maggiori.

Diverse applicazioni di questo biomateriale autologo sono state descritte in chirurgia orale, maxillo-faciale, otorinolaringoiatrica e plastica. In ambito odontoiatrico le membrane di PRF sono state utilizzate in combinazione con osso allogenico congelato nel grande rialzo di seno mascellare per via laterale, mostrando un'accelerazione nella rigenerazione ossea. Nelle procedure di preservazione o aumento della cresta alveolare, le membrane di PRF sono utilizzate per stabilizzare e proteggere i materiali da innesto. Le membrane agiscono come bende di fibrina, accelerando la guarigione dei tessuti molli, aiutando una rapida chiusura dei margini della ferita nonostante l'aggiunta di un sostanziale volume osseo. Una nuova tecnica per la ricostruzione mascellare mediante l'uso di osso allogenico congelato, membrane di PRF e una soluzione di metronidazolo allo 0,5%, ha mostrato un alto tasso di maturazione gengivale dopo la guarigione con un ispessimento del tessuto gengivale cheratinizzato che ha migliorato

l'integrazione estetica e il risultato finale delle riabilitazioni protesiche. In aggiunta, sembra che l'uso del PRF abbia ridotto l'edema e il dolore post operatorio, riducendo anche i fenomeni di infezione. Come membrana per la rigenerazione ossea guidata, la densa architettura della matrice di PRF copre, protegge e stabilizza il materiale da innesto osseo e il sito chirurgico in generale. L'elasticità e la resistenza della membrana di fibrina rende semplice la sua sutura.

Alcuni studi hanno anche provato a utilizzare il PRF come materiale rigenerativo nel trattamento dei difetti parodontali. Chang e coll., nei loro case report, hanno valutato i cambiamenti clinici e radiografici nei difetti intraossei trattati con PRF, concludendo che è una valida modalità terapeutica in quanto la sua applicazione ha mostrato una riduzione della profondità di sondaggio, un guadagno di attacco clinico e una maggior densità radiografica post operatoria nei difetti trattati. Pradeep e Sharma hanno riscontrato una maggior riduzione della profondità di sondaggio, guadagno di attacco clinico e riempimento osseo in difetti a tre pareti trattati con PRF rispetto ai tradizionali lembi di accesso. Gli stessi autori, in un altro studio, hanno mostrato come i difetti della forcazione mandibolari di classe II trattati con PRF hanno mostrato un miglioramento statisticamente significativo rispetto a quelli trattati con i lembi di accesso.

Cellule staminali

Uno degli ambiti più innovativi delle terapie rigenerative nell'ambito dell'ingegneria tissutale è rappresentato dalle tecniche di terapia cellulare, che forniscono un'ulteriore fonte di cellule nell'area di interesse. Invece di dipendere completamente dalla capacità delle cellule dell'organismo ospite per la rigenerazione di un nuovo tessuto e per la produzione di fattori di crescita, le cellule innestate sono pronte alla produzione di nuovi tessuti e

permettono un rilascio costante di citochine durante le varie fasi della guarigione.

Le cellule staminali sono cellule che si trovano in tutti gli organismi multicellulari. Sono caratterizzate dalla capacità di rinnovarsi attraverso divisione mitotica e differenziarsi in una vasta gamma di tipi cellulari specializzati. Una cellula staminale pluripotente può differenziarsi in tutti i tipi di cellule del corpo, mentre una cellula staminale multipotente può differenziarsi, comunque, in molti tipi cellulari diversi. Il potenziale di autorinnovamento e di differenziazione è governato da segnali extracellulari accoppiati a cascate di segnalazione intracellulari. Ci sono due tipi principali di cellule staminali: cellule staminali embrionali e cellule staminali adulte che sono classificate secondo la loro origine ed il loro potenziale di differenziazione.

| Stadio di sviluppo | Tipologia di staminale | Potenziale differenziativo |
|--------------------|--|--|
| Blastocisti | Cellule staminali embrionali Derivate dalla massa interna della cellula dell'embrione prima che si impiantati | Pluripotenti |
| Fetale | Cellule germinali embrionali Derivate da cellule germinali primordiali isolate da gonadi embrionali | Pluripotenti |
| Adulto | Cellule di carcinoma embrionale Derivate da cellule germinali primordiali nelle gonadi embrionali, spesso trovate come componenti dei tumori dei testicoli nell'adulto Cellule staminali adulte Derivate da organi mesodermici ed ectodermici dell'adulto Cellule dell'adulto che hanno subito una trasformazione nucleare Cellule adulte che possono essere indotte ad un fenotipo di cellule staminali embrionali | Pluripotenti Multipotenti Totipotenti Pluripotenti inducibili |

Tabella 4 Classificazione delle cellule staminali

Cellule staminali adulte o tessuto-specifiche sono presenti nella maggior parte dei tessuti fetali e adulti. Sono state ottenute da tessuti che continuamente si rinnovano, (es. sangue periferico ed epitelio gastrointestinale), nonché da tessuti con minore capacità rigenerativa (ad esempio il cervello). Si pensa che le cellule staminali adulte possono agire nel mantenimento a lungo termine dei tessuti o nella riparazione degli stessi sostituendo le cellule che sono danneggiate o sono andate perdute. Sono generalmente cellule staminali multipotenti che possono formare un numero limitato di tipi di cellule corrispondenti ai loro tessuti di origine, anche se alcuni studi hanno suggerito che sono più versatili e possono svilupparsi in molti tipi cellulari diversi.

La fonte più comune di cellule staminali adulte è il midollo osseo, che contiene le cellule staminali ematopoietiche, le cellule stromali del midollo osseo o le cellule staminali mesenchimali stromali. Le cellule staminali ematopoietiche sono state le prime ad essere utilizzate con successo in terapie, in particolare nel trattamento di neoplasie a livello ematico e sindromi da immunodeficienza, ma non sono in grado di dare origine a tessuti connettivi di supporto. Le cellule staminali mesenchimali (MSC), al contrario, sono un tipo di cellule interessanti per il loro potenziale terapeutico essendo in grado di trattare una vasta gamma di anomalie muscolo-scheletriche, malattie cardiache e anomalie immunitarie.

Bibliografia

- Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, Robey PG. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. *Stem Cells* 2001; 19: 180–192.
- Breitbart AS, Grande DA, Mason JM, et al. (1999) Gene enhanced tissue engineering: Applications for bone healing using cultured periosteal cells transduced retrovirally with the BMP-7 gene. *Ann Plast Surg*;42:488-495.
- Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Robey PG, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 13625–13630.
- Gronthos S, Zannettino AC, Hay SJ, Shi S, Graves SE, Kortessidis A, Simmons PJ. Molecular and cellular characterisation of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow. *J Cell Sci* 2003; 116: 1827–1835.
- Guhr A, Kurtz A, Friedgen K, Loser P. Current state of human embryonic stem cell research: an overview of cell lines and their use in experimental work. *Stem Cells* 2006; 24: 2187–2191.
- Horwitz EM, Le Blanc K, Dominici M, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Deans RJ, Krause DS, Keating A. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2005; 7: 393–395.
- Hou JF, Zhang H, Yuan X, Li J, Wei YJ, Hu SS (2008) In vitro effects of low-level laser irradiation for bone marrow mesenchymal stem cells: proliferation, growth factors secretion and myogenic differentiation. *Lasers Surg Med* 40(10) 726–733
- Howell TH, Fiorellini J, Jones A, et al. (1997) A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge device for local alveolar ridge preservation or augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent*;17: 124-139.
- Ishaug SL, Yaszemski MJ, Bizios R, et al. (1994) Osteoblast function on synthetic biodegradable polymers. *J Biomed Mater Res* ;28:1445-1453.
- Izadpanah R, Trygg C, Patel B, Kriedt C, Dufour J, Gimble JM, Bunnell BA. Biologic properties of mesenchymal stem cells derived from bone marrow and adipose tissue. *J Cell Biochem* 2006; 99: 1285–1297.
- Jilka RL. *Bone* 1998;23:75–81.
- Jin QM, Anusaksathien O, Webb SA, et al. (2003) Gene therapy of bone morphogenetic protein for periodontal tissue engineering. *J Periodontol*; 74:202-213.
- Kawaguchi H, Hirachi A, Hasegawa N, Iwata T, Hamaguchi H, Shiba H, Takata T, Kato Y, Kurihara H. Enhancement of periodontal tissue regeneration by transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells. *J Periodontol* 2004; 75: 1281–1287.

- Korbling M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair – a new therapeutic concept? *N Engl J Med* 2003; 349: 570–582.
- Langer R, Vacanti JP. (1993) *Tissue Engineering*. *Science* 14;260(5110):920-6.
- Leblond CP. Classification of cell populations on the basis of their proliferative behavior. *Natl Cancer Inst Monogr* 1964; 14: 119–150.
- Lieberman JR, Daluiski A, Stevenson S, et al. (1999) The effect of regional gene therapy with bone morphogenetic protein-2-producing bone-marrow cells on the repair of segmental femoral defects in rats. *J Bone Joint Surg Am*; 81:905-917.
- Locklin RM, Oreffo RO, Triffitt JT. *Cell Biol Int* 1999;23:185–194.
- Malekzadeh R, Hollinger JO, Buck D, et al. (1998) Isolation of human osteoblast-like cells and in vitro amplification for tissue engineering. *J Periodontol*; 69:1256-1262.
- Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, et al. (1998) Platelet rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*;85:638-646.
- Miura M, Gronthos S, Zhao M, Lu B, Fisher LW, Robey PG, Shi S. SHED: stem cells from human exfoliated deciduous teeth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 5807–5812.
- Morszeck C, Gotz W, Schierholz J, Zeilhofer F, Kuhn U, Mohl C, Sippel C, Hoffmann KH. Isolation of precursor cells (PCs) from human dental follicle of wisdom teeth. *Matrix Biol* 2005; 24: 155–165.
- National Institutes of Health (NIH). (2001) *Stem cells: scientific progress and future research directions*. Bethesda: NIH.
- Oreffo RO, Romberg S, Virdi AS, Joyner CJ, Berven S, Triffitt JT. *J Cell Biochem* 1999;74:372–385.
- Pfeilschifter J, Wolf O, Naumann A, Minne HW, Mundy GR, Ziegler R. *J Bone Miner Res* 1990;5:825–830.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, Moorman MA, Simonetti DW, Craig S, Marshak DR. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143–147.
- Plachokova AS, Nikolidakis D, Mulder J, Jansen JA, Creugers, NHJ. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in dentistry: a systematic review. *Clin. Oral Impl. Res.* 19, 2008; 539–545
- Posten W, Wrone DA, Dover JS, Arndt KA, Silapunt S, Alam M: Low-level laser therapy for wound healing: mechanism and efficacy. *Dermatol Surg* 2005, 31:334-340.
- Reubinoff BE, Pera MF, Fong CY, Trounson A, Bongso A. (2000) Embryonic stem cell lines from human blastocysts:somatic differentiation in vitro. *Nat Biotechnol*: 18:399–404.

- Sampath TK, Reddi AH. (1981) Dissociative extraction and reconstitution of extracellular matrix components involved in local bone differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA*;78:7599-7603.
- Sanchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. (2003) Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int J Oral Maxillofac Implants*; 18:93-103
- Scutt A, Bertram P. *J Bone Miner Res* 1995;10:474–487.
- Seibert JS. (1983) Reconstruction of deformed, partially edentulous ridges, using full thickness onlay grafts. Part I. Technique and wound healing. *Compend Contin Educ Dent*;4:437-453.
- Seo BM, Miura M, Gronthos S, Bartold PM, Batouli S, Brahim J, Young M, Robey PG, Wang CY, Shi S. Investigation of multipotent postnatal stem cells from human periodontal ligament. *Lancet* 2004; 364: 149–155.
- Simion M, Rocchietta I, Kim D, et al. (2006) Vertical ridge augmentation by means of deproteinized bovine bone block and rhPDGF-BB. A histological study in a dog model. *Int J Periodontics Restorative Dent*;26:415-423.
- Smith A. (2006) A glossary for stem-cell biology. *Nature*;441: 1060.
- Smith C, Storms B. Hematopoietic stem cells. *Clin Orthop Relat Res* 2000: S91–97.
- Sonoyama W, Liu Y, Fang D, Yamaza T, Seo BM, Zhang C, Liu H, Gronthos S, Wang CY, Shi S, Wang S. Mesenchymal stem cell-mediated functional tooth regeneration in Swine. *PLoS ONE* 2006; 1: e79.
- Stephan EB, Jiang D, Lynch S, et al. (1999) Anorganic bovine bone supports osteoblastic cell attachment and proliferation. *J Periodontol*;70:364-369.
- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. (1998) Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*; 282:1145–1147.
- Toma JG, Akhavan M, Fernandes KJ, Barnabe-Heider F, Sadikot A, Kaplan DR, Miller FD. Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 778–784.
- Tsutsumi S, Shimazu A, Miyazaki K, et al. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;288:413–419.
- Wozney JM, Rosen V, Celeste AJ, et al. (1988) Novel regulators of bone formation: Molecular clones and activities. *Science*; 242:1528-1534.
- Yang X, Tare RS, Partridge KA, et al. *J Bone Miner Res* 2003;18:47–57.
- Young HE, Steele TA, Bray RA, Hudson J, Floyd JA, Hawkins K, Thomas K, Austin T, Edwards C, Cuzzourt J, Duenzl M, Lucas PA, Black AC Jr. Human reserve pluripotent mesenchymal stem cells are present in the connective tissues of skeletal muscle and dermis derived from fetal, adult, and geriatric donors. *Anat Rec* 2001; 264: 51–62.

PARTE SPERIMENTALE

Razionale scientifico

L'estrazione di uno o più elementi dentari innesca una serie di processi biologici che modificano notevolmente l'alveolo post-estrattivo o la cresta alveolare. Numerosi studi e una review sistematica condotta da Tan et coll. sulle alterazioni dimensionali dei tessuti duri e molli nei siti post estrattivi hanno dimostrato che la perdita orizzontale di osso (29-63 %, 2,46-4,56 mm, in media 3,79 mm a 6 mesi) era maggiore della perdita verticale di osso (11-22%, 0,8-1,5 mm, in media 1,24 mm a sei mesi) in seguito ad estrazione dentaria. Il versante vestibolare mostrava un maggior riassorbimento rispetto all'aspetto linguale/palatale. Si era osservato un pattern di riassorbimento rapido nei primi 3-6 mesi, seguito da una graduale riduzione della compagine ossea nei mesi e anni successivi. Le conclusioni della review indicavano quindi che le alterazioni dimensionali dei tessuti duri e molli negli alveoli post estrattivi possono essere abbastanza estesi e richiedere quindi un'attenta programmazione terapeutica da parte del clinico.

In un'altra review sistematica di Vignoletti et coll. le meta-analisi hanno mostrato che, sebbene un certo grado di modellamento e rimodellamento osseo si verifica in seguito ad estrazione dentaria, le diverse procedure di preservazione della cresta ossea hanno determinato una contrazione verticale e orizzontale significativamente minore della cresta ossea. I risultati ottenuti, tuttavia, non permettevano di indicare quale fosse la procedura chirurgica o il biomateriale più adatto, sebbene l'uso di membrane come barriere, l'approccio chirurgico con sollevamento di un lembo e la chiusura per prima intenzione del lembo hanno dimostrato risultati migliori.

Obiettivo dello studio

L'obiettivo primario dello studio è valutare il potenziale rigenerativo dell'osso eterologo e PRF associato a terapia fotodinamica laser-assistita in siti post estrattivi.

L'obiettivo secondario è valutare la sopravvivenza implantare nei pazienti trattati con questa tecnica di preservazione della cresta alveolare.

Obiettivo terziario è valutare la guarigione della ferita chirurgica nelle settimane successive all'intervento.

Disegno dello studio

Si tratta di uno studio clinico di fase II.

È uno studio clinico monocentrico, condotto presso la Clinica Odontoiatrica dell'Ospedale San Gerardo di Monza con la possibilità di reclutare i pazienti presso tutte le strutture ospedaliere afferenti all'Organizzazione a Rete.

Il Dott. Paiusco si è occupato del reclutamento dei pazienti idonei a questo studio, che necessitavano l'avulsione di almeno un elemento dentario con prognosi infausta per la successiva terapia riabilitativa implantare.

Gli esami clinici e radiografici dovevano mostrare la presenza di almeno un elemento dentario con una delle seguenti caratteristiche:

- Fattori prognostici Parodontali:

- Ascessi parodontali ricorrenti
- Lesioni combinate endo-parodontali
- Perdita di attacco all'apice
- Mobilità di grado 3

- Fattori prognostici Endodontici:
 - Perforazione radicolare nella metà apicale della radice
 - Elemento automatico e presenza di radiotrasparenza all'apice nessun trattamento ulteriore possibile

- Fattori prognostici Protesici:
 - Tessuto dentario residuo insufficiente (< 1,5 mm ferula circolare), impossibilità di allungamento coronale o estrusione

- Fattori prognostici Dentali:
 - Frattura verticale della radice
 - Frattura obliqua nel terzo mesiale della radice
 - Lesioni cariose che si estendono nel canale radicolare

Popolazione dello studio

Sono stati selezionati 15 pazienti rispondenti a precisi criteri d'inclusione:

- età compresa tra i 30 ed i 70 anni;
- assenza di allergie;
- assenza di malattie sistemiche non controllate;
- assenza di gravidanza;
- accettazione dell'intervento chirurgico con la firma di un consenso informato;
- assenza di abuso di alcool o di droghe;
- assenza di patologie psichiatriche.

Parametri clinici e radiografici

Un esame clinico e radiografico è stato effettuato a baseline. Le valutazioni sono state effettuate radiograficamente mediante l'utilizzo di scansioni TC Cone Beam.

Terapia pre-chirurgica

Prima delle procedure chirurgiche è stata effettuata terapia parodontale causale, al fine di raggiungere un Full Mouth Plaque Index < 20%, scaling e root planing associate a terapia fotodinamica laser assistita. I solchi gengivali di tutti gli elementi dentari saranno irrigati con perossido di idrogeno al 3% e 10 volumi, lasciato in sito per qualche minuto, successivamente irradiati con laser a diodi con i seguenti parametri:

- Potenza: 2,5 watt
- Frequenza: 7000 Hz
- Tempo di attivazione (T on) 0,25 μ s e tempo di riposo (T off) 1,5 μ s
- Fibra ottica da 400 micron

La fibra laser è stata inserita all'interno di ciascun solco gengivale e attivata compiendo frequenti movimenti di va e vieni dal colletto del dente al fondo della tasca.

Preparazione della PRF

Previa accettazione dei pazienti, mediante firma dell'apposito modulo, di sottoporsi alle procedure per l'ottenimento e l'utilizzo del PRF, poco prima dell'intervento chirurgico è stato effettuato un prelievo ematico in provette prive di anticoagulante. Le provette sono state immediatamente centrifugate per 12 minuti a 3600 rph secondo il protocollo standardizzato proposto da Chocrun. Terminato il ciclo di centrifugazione le provette sono state aperte e la Fibrina Ricca di Piastrine è stata separata dal resto del preparato e

posizionata nell'apposito box per essere compressa e assumere la forma appiattita e allungata simile a una membrana.

Terapia Chirurgica

Previa infiltrazione di anestetico locale si è proceduto a incidere e scollare lembi mucoperiosteici a tutto spessore, è stata effettuata l'avulsione atraumatica degli elementi dentari con successiva degranulazione accurata degli alveoli post estrattivi; è stata effettuata la terapia fotodinamica laser-assistita secondo il protocollo descritto in precedenza e si è proceduto a innestare osso eterologo, PRF e membrana riassorbibile in collagene negli alveoli post estrattivi. I lembi sono stati riposizionati e suturati ottenendo una chiusura per seconda intenzione. La sutura è stata eseguita con filo in nylon 4/0 mediante punti a materasso orizzontale interni e punti staccati. A distanza di 8 mesi è stato effettuato il rientro chirurgico per il posizionamento degli impianti.

Gestione post-operatoria

I pazienti sono stati dimessi circa 30 minuti dopo aver terminato la sutura in modo da controllare di aver ottenuto un perfetto controllo dell'emostasi. Gli stessi sono stati invitati a seguire una dieta fredda e semiliquida e ad evitare sciacqui per le prime 24 ore. Hanno assunto la terapia antibiotica come da prescrizione e antidolorifici al bisogno. Dalla sera successiva all'intervento i pazienti hanno effettuato sciacqui con collutorio con clorexidina 0,2% tre volte al giorno per 7 giorni e hanno applicato un gel a base di clorexidina nella zona dell'intervento.

Valutazioni post-operatorie

- T1 (10 giorni dopo l'intervento): rimozione dei punti di sutura, valutazione della guarigione del lembo, valutazione della presenza di eventuali complicanze

- T2 (14 giorni dopo l'intervento): valutazione del processo di guarigione

- T3 (21 giorni dopo l'intervento): valutazione del processo di guarigione

- T4 (90 giorni dopo l'intervento): valutazione del processo di guarigione

- T5 (240 giorni dopo l'intervento): valutazione del processo di guarigione. Esecuzione di un nuovo esame radiografico.

- T6 (250 giorni dopo l'intervento): rientro chirurgico e posizionamento degli impianti.

- T7 (10 giorni dopo il rientro): rimozione dei punti di sutura.

- T8 (21 giorni dopo il rientro): valutazione del processo di guarigione

- T9 (30 giorni dopo il rientro): valutazione del processo di guarigione

- T10 (90 giorni dopo il rientro): valutazione del processo di guarigione degli impianti. Esecuzione di radiografia panoramica.

- T11 (10 giorni dopo la riapertura): rimozione dei punti di sutura

- T12 (60 giorni dopo la riapertura): carico funzionale dell'impianto. Valutazione dell'eventuale perdita di osso mediante sondaggio e ortopantomografia o radiografia endorale.
- T13 (180 giorni dopo la riapertura): Valutazione dell'eventuale perdita di osso mediante sondaggio e ortopantomografia.

Caso clinico

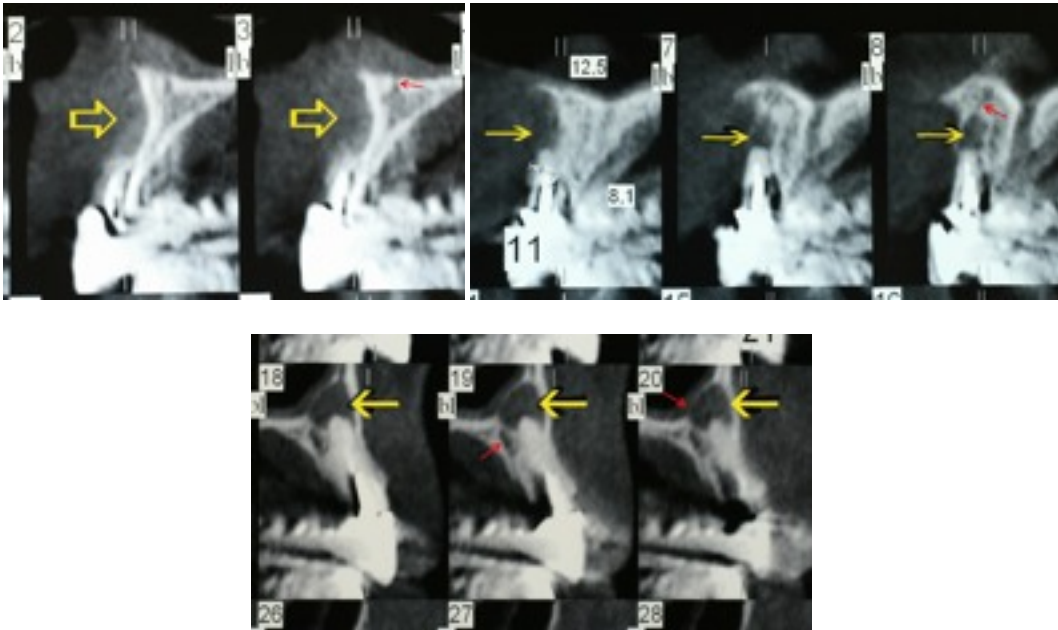


Fig. 14 Visione radiografica iniziale

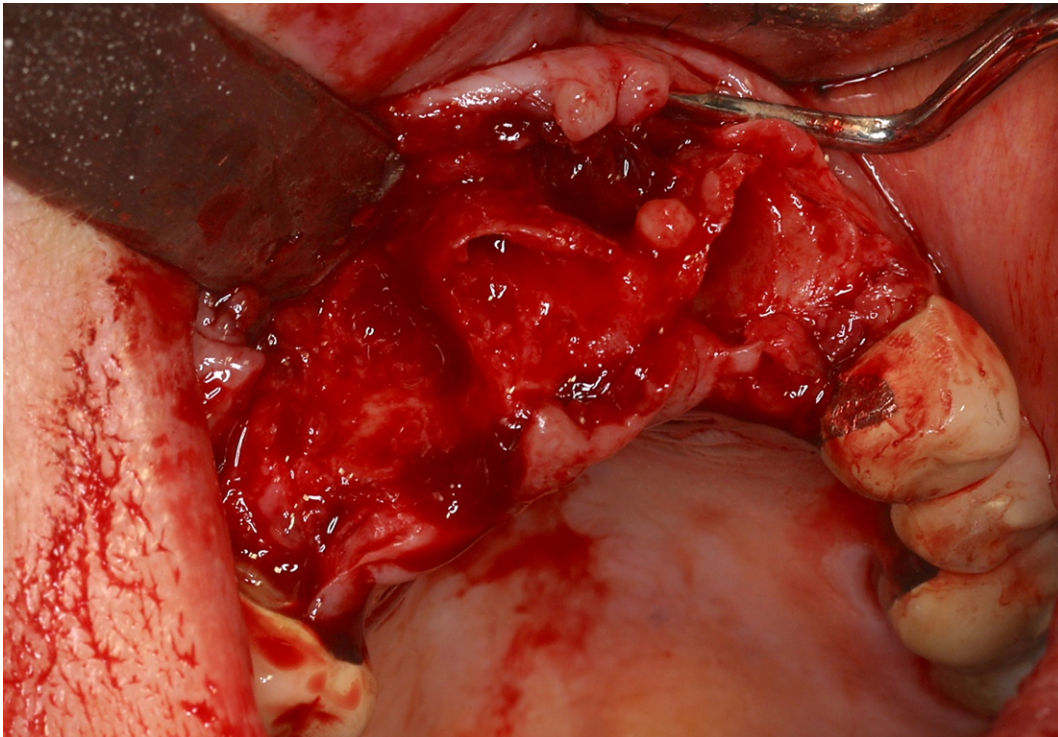


Fig. 15 Alveoli post estrattivi

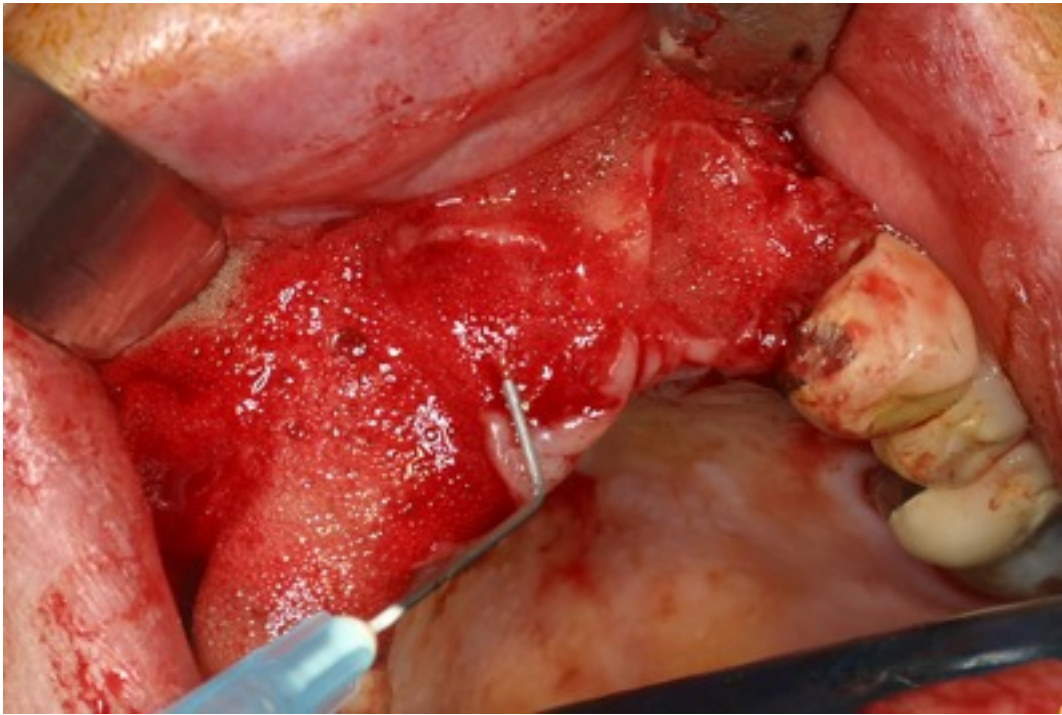


Fig. 16 Irrigazione con perossido di idrogeno

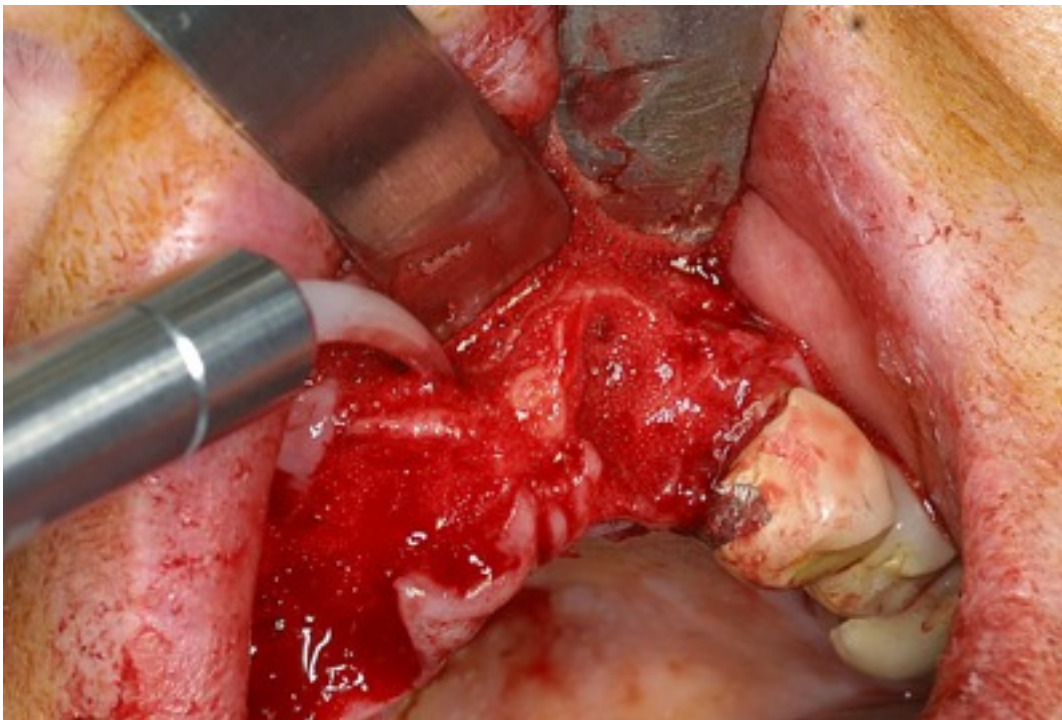


Fig. 17 Terapia fotodinamica laser-assistita

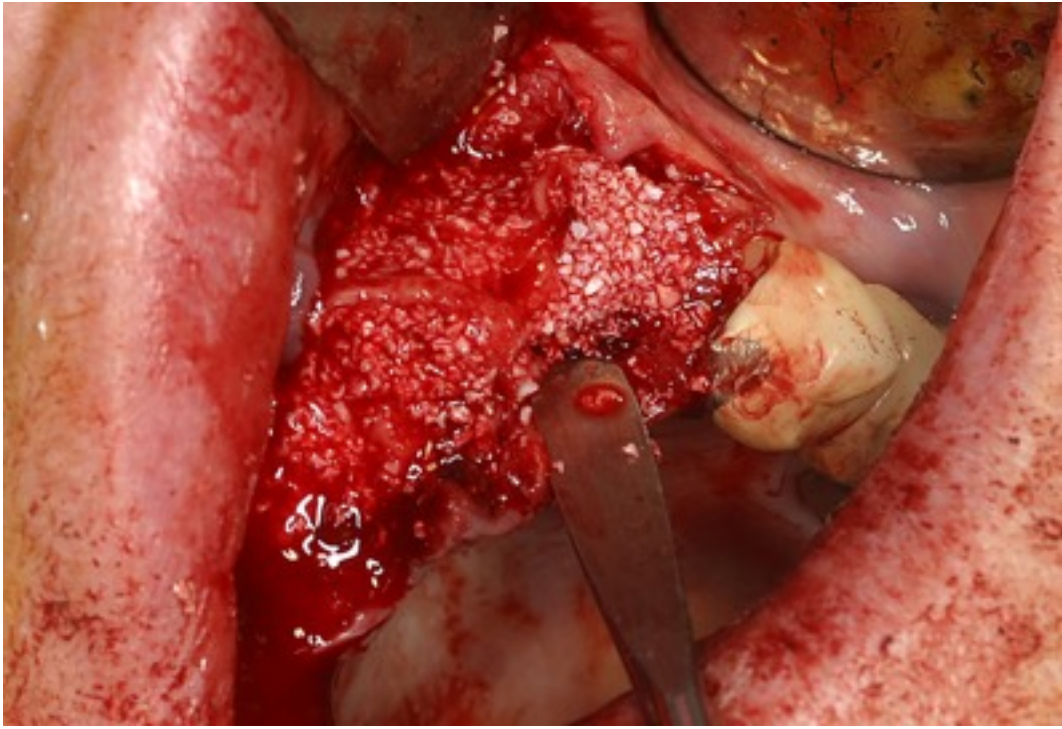


Fig. 18 Innesto di osso eterologo

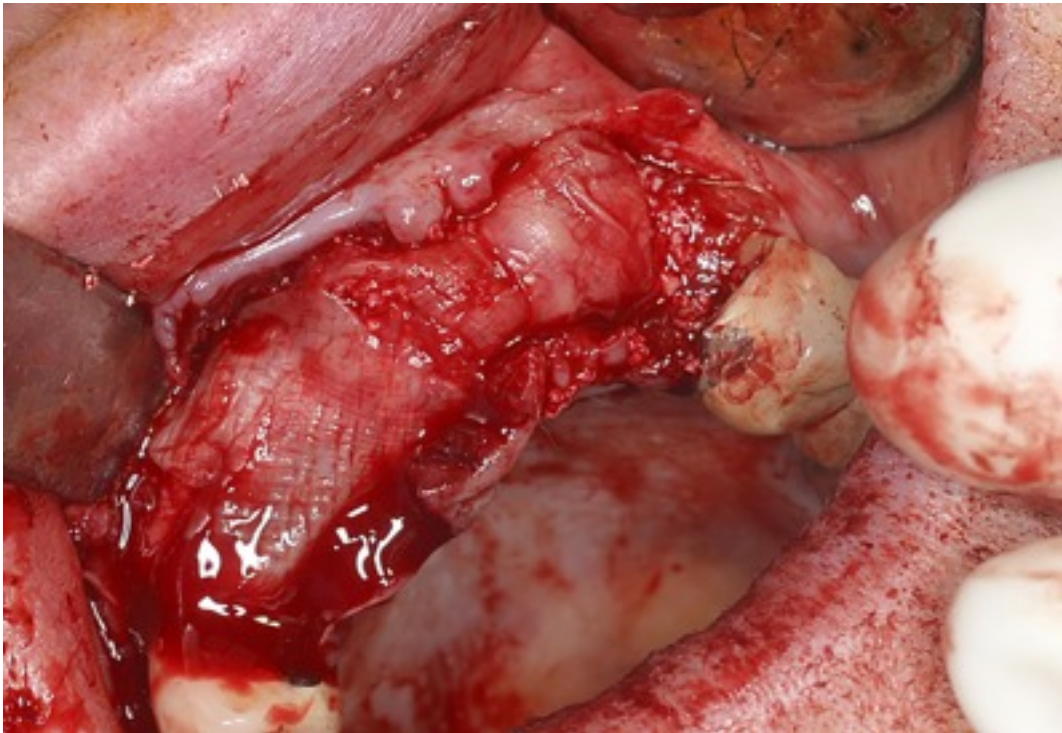


Fig. 19 Innesto della PRF

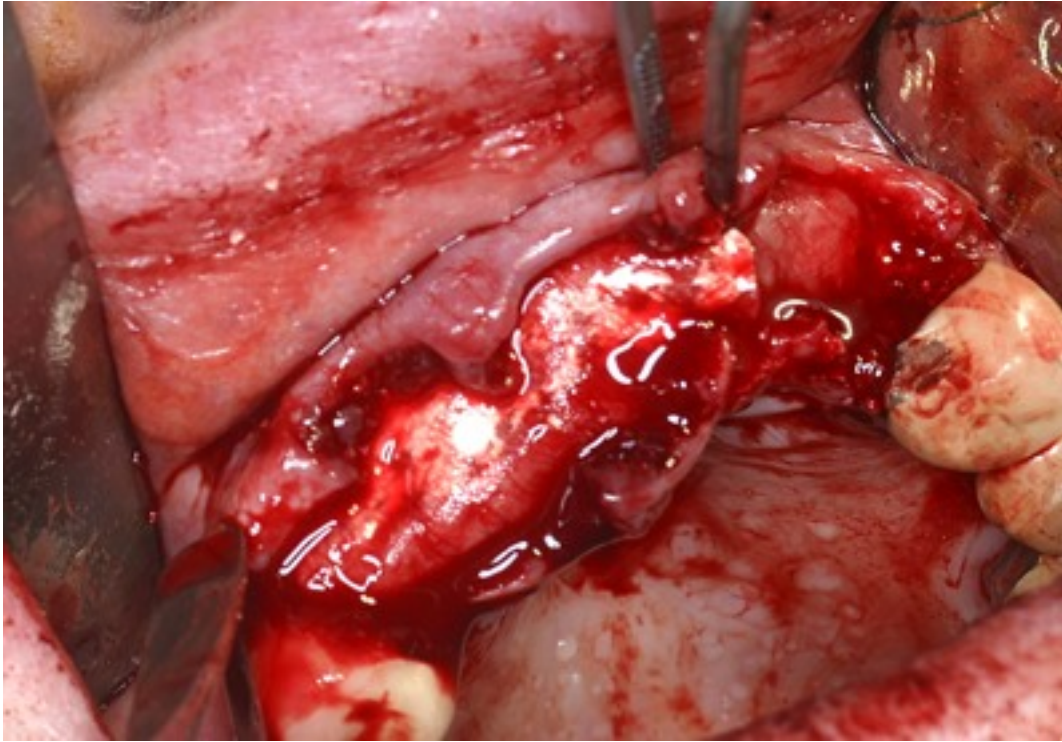


Fig. 20 Innesto di membrane riassorbibili in collagene

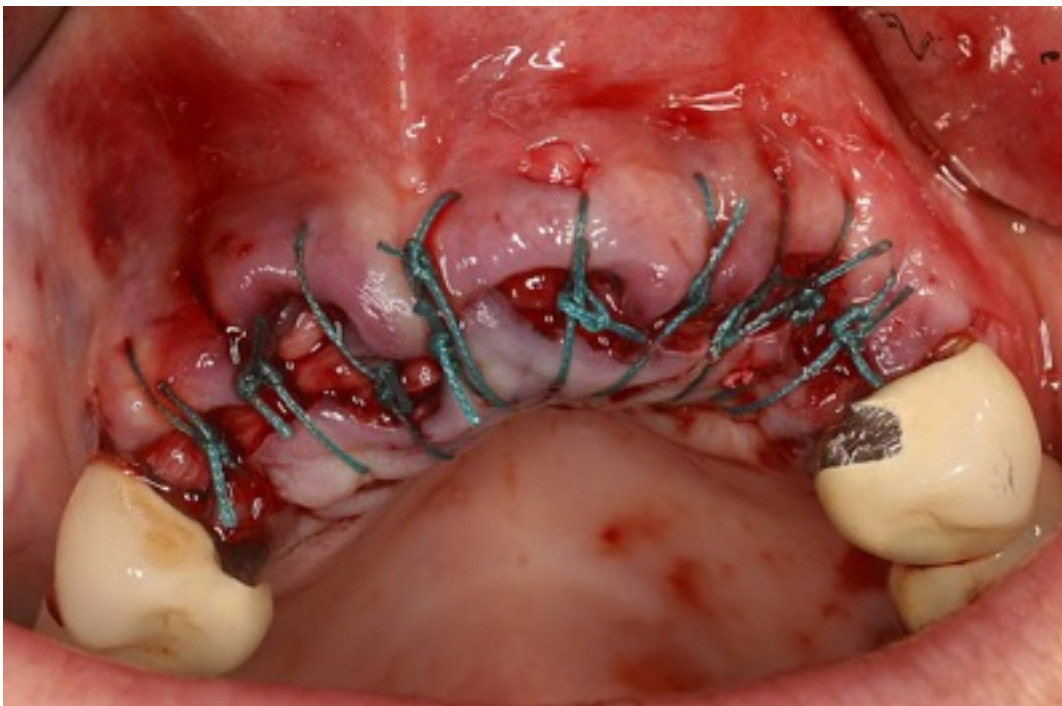


Fig. 21 Sutura in nylon



Fig. 22 Rimozione suture a 10 giorni

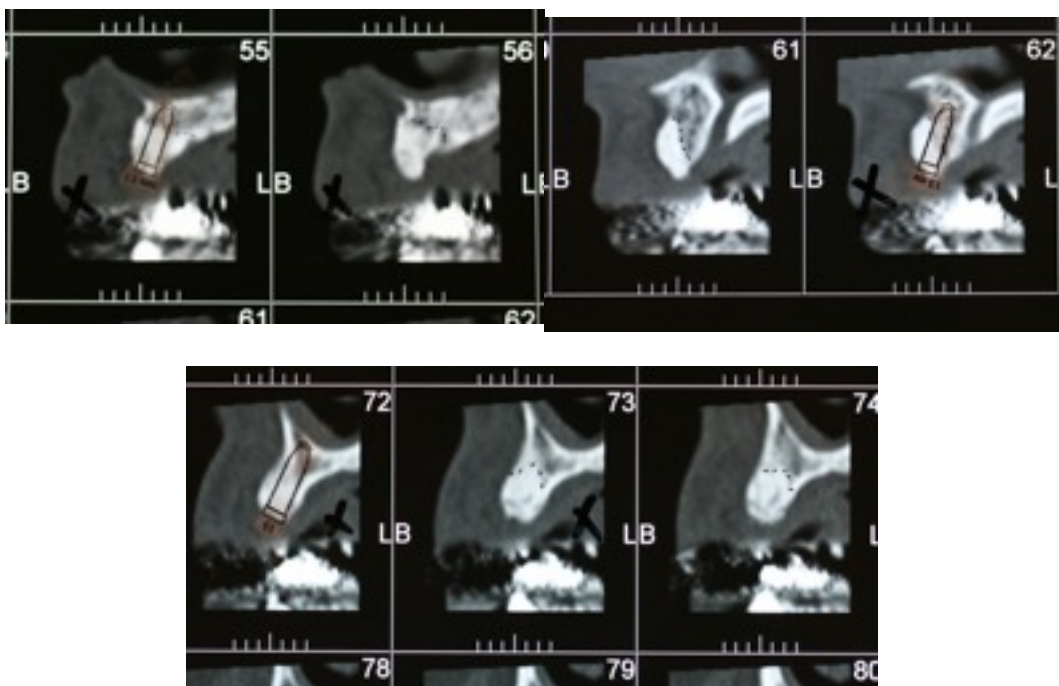


Fig. 23 Visione radiografica a 8 mesi

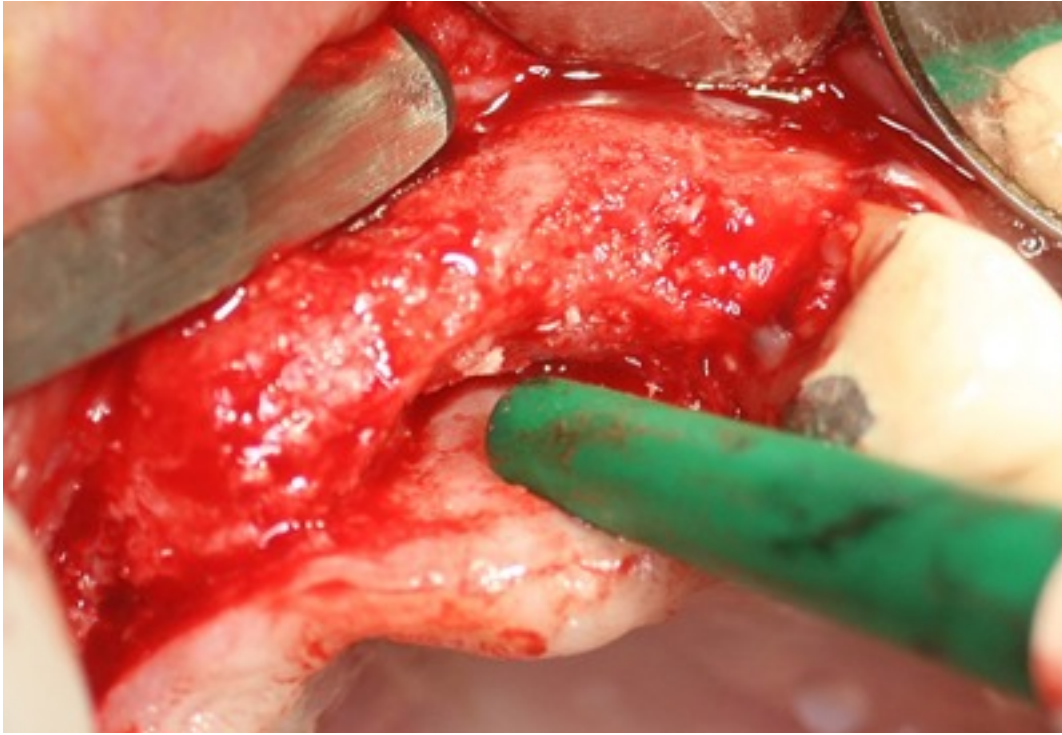


Fig. 24 Rientro chirurgico: tessuto osseo neoformato

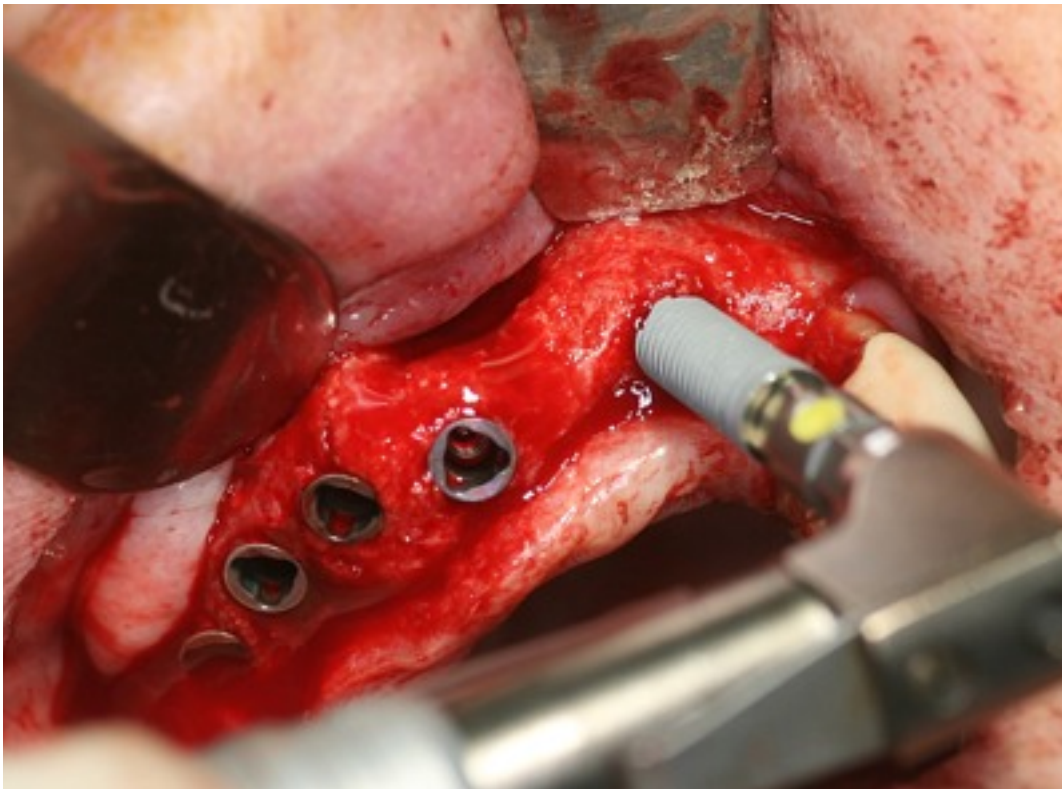


Fig. 25 Posizionamento degli impianti

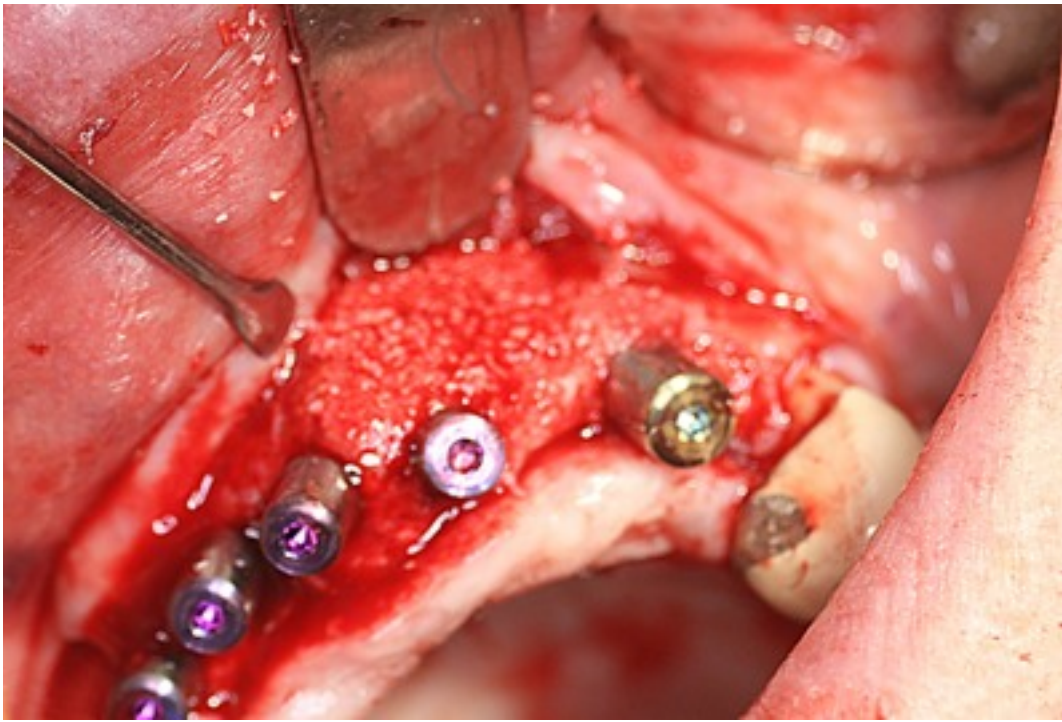


Fig. 26 Posizionamento degli impianti

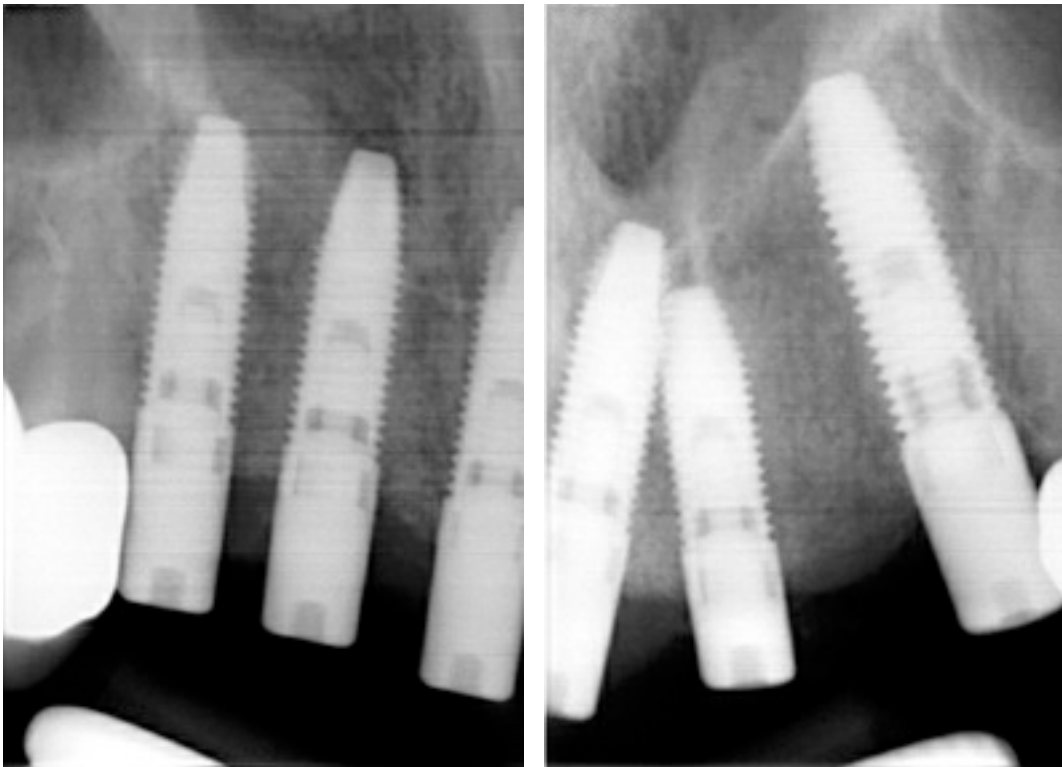


Fig. 27 Controllo radiografico



Fig. 28 Perni su impianti



Fig. 29 Finalizzazione protesica

Risultati

Inizialmente sono stati considerati idonei allo studio 21 pazienti, ma 6 di questi sono stati esclusi per i seguenti motivi: 2 pazienti erano affetti da diabete incontrollato; 1 paziente era sotto terapia con bifosfonati; 3 pazienti non hanno seguito le istruzioni di igiene orale.

Tutti i 15 pazienti inclusi nello studio (6 maschi e 9 femmine, età media 48,6 anni; range tra 35 e 61 anni) hanno acconsentito a sottoporsi all'estrazione degli elementi dentari e alla successiva terapia implantare. Tutte le procedure di preservazione della cresta sono andate a buon fine, senza mostrare complicanze e non hanno mostrato differenze significative nei risultati.

Nessun alveolo ha presentato segni di esfoliazione del sostituto osseo da innesto durante le fasi di guarigione o episodi di alveolite.

Le misurazioni cliniche e radiografiche della cresta alveolare sono state ottenute e analizzate statisticamente.

Clinicamente è stata effettuata la valutazione dello spessore della cresta alveolare (SC) dal margine buccale della cresta al margine linguale/palatale mediante sonda parodontale PCPUNC 15 al momento dell'estrazione degli elementi dentari e al rientro chirurgico per il posizionamento degli impianti. Radiograficamente, mediante sezioni TC cone beam, è stata effettuata la valutazione dell'altezza della cresta alveolare dall'osso basale al margine apicale della cresta (AC), prima dell'intervento chirurgico estrattivo e a 8 mesi dall'intervento, e la valutazione dello spessore della cresta alveolare in direzione bucco-linguale/palatale nella porzione apicale (SC1) e coronale (SC2).

I risultati delle valutazioni sono riportati nella Tabella 5

| Paziente | SC | | AC | | SC1 | | SC2 | |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | Baseline | A 8 mesi | Baseline | A 8 mesi | Baseline | A 8 mesi | Baseline | A 8 mesi |
| 1 | 6,5 | 6 | 10,3 | 9,9 | 6,8 | 6,3 | 7,1 | 7,1 |
| 2 | 7 | 6 | 9,8 | 9,6 | 7,2 | 6,2 | 7,5 | 7,4 |
| 3 | 2,5 | 5 | 11,2 | 11,3 | 2,9 | 5,3 | 6,4 | 6,2 |
| 4 | 8,5 | 7,5 | 10,9 | 10,7 | 8,9 | 7,6 | 8,9 | 8,6 |
| 5 | 3 | 5 | 11,6 | 11,5 | 3,6 | 5,2 | 5,3 | 5,2 |
| 6 | 6,5 | 6 | 13,1 | 12,7 | 6,6 | 6,1 | 6,9 | 6,8 |
| 7 | 7,5 | 6,5 | 8,4 | 8,2 | 7,8 | 6,6 | 8,1 | 7,9 |
| 8 | 7,5 | 6,5 | 9,6 | 9,3 | 7,9 | 6,5 | 8,2 | 8,1 |
| 9 | 8 | 7,5 | 10,2 | 10,1 | 8,3 | 7,7 | 8,4 | 8,2 |
| 10 | 4,5 | 6 | 10,4 | 10,1 | 5,1 | 6,4 | 5,3 | 5,2 |
| 11 | 8,5 | 7 | 12,3 | 12,2 | 8,6 | 7,2 | 8,7 | 8,4 |
| 12 | 5,5 | 6,5 | 9,3 | 9,1 | 5,8 | 6,4 | 6,3 | 6,1 |
| 13 | 6,5 | 6 | 11,2 | 11,4 | 6,9 | 6,1 | 7,2 | 6,9 |
| 14 | 6,5 | 6,5 | 11,7 | 11,5 | 7,1 | 6,8 | 7,3 | 7,1 |
| 15 | 7 | 6,5 | 10,9 | 11,2 | 7,4 | 6,7 | 7,5 | 7,3 |
| Media | 6,37 | 6,3 | 10,73 | 10,59 | 6,73 | 6,47 | 7,27 | 7,1 |

Tabella 5 Valutazione clinica e radiografica dell'altezza e spessore della cresta alveolare a baseline e a 8 mesi

A distanza di 8 mesi a tutti i pazienti è stato possibile inserire gli impianti nei siti post estrattivi. Nella tabella 6 sono riportati i dati relativi.

Sono stati posizionati un totale di 53 impianti. In un solo paziente non si è verificata l'osteointegrazione di due dei quattro impianti posizionati nella seduta chirurgica di rientro. Dei 53 impianti posizionati a distanza di un anno 51 rispettavano tutti i criteri di sopravvivenza implantare con una percentuale del 96,2%.

| Paziente | N° impianti | Impianti falliti | Sopravvivenza a 1 anno |
|---------------|-------------|------------------|------------------------|
| 1 | 3 | 0 | 3 |
| 2 | 2 | 0 | 2 |
| 3 | 5 | 0 | 5 |
| 4 | 4 | 0 | 4 |
| 5 | 4 | 2 | 2 |
| 6 | 3 | 0 | 3 |
| 7 | 3 | 0 | 3 |
| 8 | 4 | 0 | 4 |
| 9 | 2 | 0 | 2 |
| 10 | 2 | 0 | 2 |
| 11 | 4 | 0 | 4 |
| 12 | 6 | 0 | 6 |
| 13 | 4 | 0 | 4 |
| 14 | 4 | 0 | 4 |
| 15 | 3 | 0 | 3 |
| Totale | 53 | 2 | 96,2% |

Tabella 6 Impianti posizionati e sopravvivenza a 1 anno

La guarigione dei tessuti molli è stata analizzata nelle settimane successive all'intervento chirurgico estrattivo abbinato alle procedure di preservazione della cresta alveolare. Nella tabella 7 sono riportate le valutazioni sulla guarigione dei lembi, considerando la totale chiusura del tessuto gengivale guarito per seconda intenzione.

| Paziente | Chiusura lembo 10 giorni | Chiusura lembo 14 giorni | Chiusura lembo 21 giorni |
|----------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1 | No | Sì | Sì |
| 2 | No | Sì | Sì |
| 3 | No | Sì | Sì |
| 4 | No | Sì | Sì |
| 5 | No | Sì | Sì |
| 6 | No | Sì | Sì |
| 7 | No | Sì | Sì |
| 8 | No | Sì | Sì |
| 9 | Sì | Sì | Sì |
| 10 | No | Sì | Sì |
| 11 | No | Sì | Sì |
| 12 | No | No | Sì |
| 13 | No | Sì | Sì |
| 14 | No | Sì | Sì |
| 15 | No | Sì | Sì |

Tabella 7 Guarigione dei tessuti molli

Discussione

Le terapie di preservazione della cresta alveolare sono state proposte con l'obiettivo di mantenere le dimensioni dei tessuti duri e molli della cresta alveolare che sono parzialmente perse dopo estrazione dentaria come parte del naturale processo di guarigione. Questo obiettivo è particolarmente ricercato in vista di una seguente terapia implantare al fine di ottenere la miglior quantità di osso per posizionare gli impianti e riabilitare protesicamente il paziente.

In letteratura negli ultimi anni una sempre maggior attenzione viene riservata alle procedure di preservazione della cresta alveolare per valutare quale sia la più predicibile e con risultati migliori, sebbene ad oggi non vi è ancora un'evidenza scientifica a riguardo.

Una review sistematica su questo tema è stata pubblicata nel 2012 da Vignoletti et al., il cui obiettivo primario era quello di valutare le alterazioni dimensionali in senso verticale e orizzontale dei tessuti duri e molli della cresta alveolare ad almeno 3 mesi dall'estrazione dentaria.

Complessivamente, i risultati della meta-analisi hanno dimostrato una maggior preservazione, statisticamente significativa, della cresta ossea alveolare sia in altezza che in spessore nei gruppi test (trattati con tecniche di preservazione della cresta) rispetto alla guarigione degli alveoli controllo non trattati. Relativamente ai cambiamenti nell'altezza ossea, la differenza globale tra i gruppi test e controllo si attestava a 1,47 mm.

I risultati delle meta-analisi suggeriscono che l'uso di terapie di preservazione della cresta limitano le variazioni dimensionali verticali e orizzontali della cresta alveolare dopo estrazione dentaria.

| Vertical changes of the alveolar crest | | | | | | |
|--|--|---|--|---------|-------|----------------------|
| Publication (#) | Interventions/groups | Measurement method | Surgical considerations | Control | Test | P-value |
| Hoad-Reddick et al. (1994) (1) | Test: Hydroxyapatite granules socket filling Control: No socket filling | Lateral cephalographs and dental pantomograms | Flapless Primary closure: NO of socket: NA | 2.42 | 0.65 | ND:1.77 NA |
| Lekovic et al. (1997); _1 (2) | Test: ePTFE® membrane socket filling Control: No socket filling | Reentry surgery | Flap Primary closure: YES socket: NA | -1.2 | -0.5 | Mb: -0.7 0.001 |
| Lekovic et al. (1998) (3) | Test: membrane of glycolide and lactide polymers Control: No socket filling | Reentry surgery | Flap Primary closure: YES socket: NA | -1.5 | -0.38 | Mb: -1.12 <0.0005 |
| Serino et al. (2003) (6) | Test: Sponge of poly(lactide-polyglycolide acid) Control: No socket filling | Reentry surgery + stent | Flap Primary closure: YES socket: NA | -0.8 | 1.3 | Mb: -2.1 NA |
| Isabella et al. (2003) (7) | Test: FDIBA + tetracycline + collagen membrane Control: No socket filling | Clinical + stent | Flap Primary closure: NO socket: NA | -0.9 | 1.3 | Mb: -2.2 -0.05 |
| Fiorellini et al. (2005)_1 (8) | Test 1: 0.75 mg/ml rBMP/ACS No socket filling | CT scan | Flap Primary closure: YES socket: 3-wall (no buccal wall) | -1.17 | -0.62 | ND: -0.55 NS |
| Fiorellini et al. (2005)_2 (8) | Test 2: 1.50 mg/ml rBMP/ACS No socket filling | CT scan | Flap Primary closure: YES socket: 3-wall (no buccal wall) | -1.17 | -0.02 | ND: -1.15 0.007 |
| Barone et al. (2008) (9) | Test: Corticocancellous porcine bone + collagen membrane Control: No socket filling | Reentry + stent | Flap Primary closure: YES socket: 4-wall | -3.6 | -0.7 | Mb: -2.9 NA |
| Barone et al. (2008) (9) | Test: Corticocancellous porcine bone + collagen membrane Control: No socket filling | Reentry + stent | Flap Primary closure: YES socket: 4-wall | -3.6 | -0.7 | Mb: -2.9 NA |
| Almetti et al. (2009) (11) | Test: Medical-grade calcium sulphate hemihydrate Control: No socket filling | Reentry + stent | Flapless Primary closure: NO of socket: NA | -1.2 | -0.5 | Mb: -0.7 NA |
| Crespi et al. (2009)_1 (12) | Test 1: Magnesium-enriched hydroxyapatite Control: No socket filling | Periapical X-rays | Flapless Primary closure: YES (tissue graft) Type of socket: 3-wall(no buccal wall) | -3.75 | -0.48 | ND: -3.27 NA |
| Crespi et al. (2009)_2 (12) | Test 2: Calcium sulphate Control: No socket filling | Periapical X-rays | Flapless Primary closure: YES (tissue graft) Type of socket: 3-wall(no buccal wall) | -3.75 | -2.48 | ND: -1.27 NA |

Abbreviations of the interventions: P-values of the statistical analysis of the intergroup differences in the changes between baseline and end of the study, SD of the means of the intergroup differences in the changes between baseline and end of the study. NS, not statistically significant; NA, data not available; Mb, midbuccal; ND, not defined site; ACS, absorbable collagen sponge; rBMP, recombinant human BMP-2; e-PTFE, expanded polytetrafluoroethylene; FDIBA, freeze-dried bone allograft.

Tabella 8 Variazioni dell'altezza ossea, espresse come media (mm)

| Horizontal changes of the alveolar crest | | | | | | |
|--|--|--------------------|--|---------|-------|----------------|
| Publication (#) | Interventions/groups | Measurement method | Surgical considerations | Control | Test | Diff. P-value |
| Lekovic et al. (1997), ₂ (2) | Test: ePTFE® membrane socket filling Control: No | Reentry surgery | Flap Primary closure: YES socket: NA | -4.4 | -1.8 | -2.6 0.002 |
| Lekovic et al. (1998) (3) | Test: membrane of glycolide and lactide polymers Control: No socket filling | Reentry surgery | Flap Primary closure: YES socket: NA | -4.56 | -1.31 | -3.25 <0.00001 |
| Ianella et al. (2003) (7) | Test: FDA + tetracycline + collagen membrane Control: No socket filling | Clinical + stent | Flap Primary closure: NO socket: NA | -2.6 | -1.2 | -1.4 <0.05 |
| Fiorellini et al. (2005), ₁ (8) | Test 1: 0.75 mg/ml rhBMP/ACS No socket filling Control: | CT scan | Flap Primary closure: YES socket: 3-wall(no buccal wall) | 0.57 | 1.76 | -1.19 NS |
| Fiorellini et al. (2005), ₂ (8) | Test 2: 1.50 mg/ml rhBMP/ACS No socket filling Control: | CT scan | Flap Primary closure: YES socket: 3-wall (no buccal wall) | 0.57 | 3.27 | -2.7 0.000 |
| Barone et al. (2008) (9) | Test: Corticocancellous porcine bone + collagen membrane Control: No socket filling | Reentry + stent | Flap Primary closure: YES socket: 4-wall | -4.5 | -2.5 | -2 NA |
| Almetti et al. (2009) (11) | Test: Medical-grade calcium sulphate hemihydrate Control: No socket filling | Reentry + stent | Flapless Primary closure: NO of socket: NA | -3.2 | -2 | -1.2 NA |
| Casado et al. (2010), ₁ (13) | Test 1: bovineBMP + BOM socket filling Control: No | Clinical + stent | Flap Primary closure: YES socket: NA | -0.16 | 3.05 | -3.21 NA |
| Casado et al. (2010), ₂ (13) | Test 2: bovineBMP-BOM+resorbable membrane Control: No socket filling | Clinical + stent | Flap Primary closure: YES socket: NA | -0.16 | 2.42 | -2.58 NA |
| Casado et al. (2010), ₃ (13) | Test 3: resorbable membrane Control: No socket filling | Clinical + stent | Flap Primary closure: YES socket: NA | -0.16 | 2.9 | -3.06 NA |
| Oghili & Stenvling (2010), ₁ (14) | Test 1: Autogenous soft tissue graft + collagen plug2 Control: No socket filling | Cast | Flapless Primary closure: YES (soft tissue graft) Type of socket: NA | -0.3 | -0.8 | 0.5 0.001 |
| Oghili & Stenvling (2010), ₂ (14) | Test 2: Autogenous soft tissue graft + collagen matrix with gentamicin Control: No socket filling | Cast | Flapless Primary closure: YES (soft tissue graft) Type of socket: NA | -0.3 | -0.1 | -0.2 0.07 |

Abbreviations of the interventions: P-values of the statistical analysis of the intergroup differences in the changes between baseline and end of the study. NS, not statistically significant; NA, data not available; BOM, bovine organic matrix.

Tabella 9 Variazioni dello spessore osseo, espresse come media (mm)

Bone height

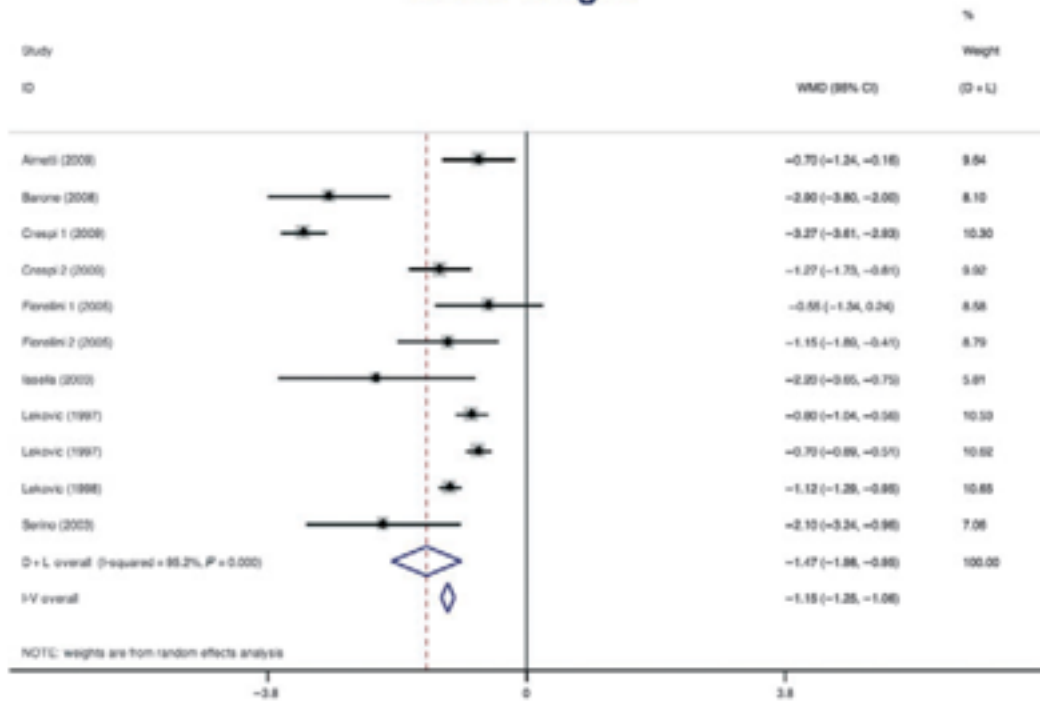


Tabella 10 Meta-analisi: variazioni dell'altezza ossea

Bone width

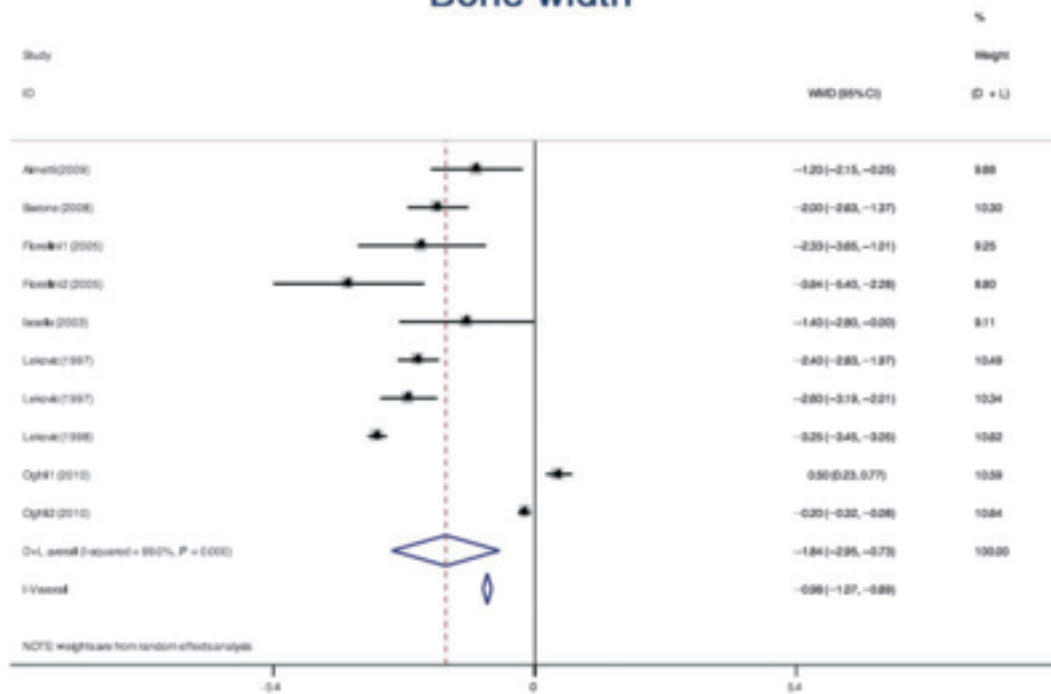


Tabella 11 Meta-analisi: variazioni dello spessore osseo

Uno dei fattori più importanti che ha influenzato i risultati delle meta-analisi è stata la procedura chirurgica (con lembo/senza lembo). Le procedure chirurgiche con lembo hanno mostrato un riassorbimento orizzontale significativamente minore se comparato alle procedure senza lembo. Tuttavia l'effetto dello scollamento di un lembo sul processo di guarigione di un alveolo dopo estrazione dentaria è ancora controverso, con risultati di alcuni modelli sperimentali che riportano un rimodellamento osseo meno pronunciato con un approccio senza lembo, o utilizzando procedure di preservazione della cresta e quando si posizionano gli impianti subito dopo l'estrazione dentaria.

Un altro importante fattore che influenza i risultati delle meta-analisi è l'utilizzo di membrane e innesti. Mentre l'uso di membrane da sole ha riportato una maggior variazione ossea in senso verticale rispetto agli innesti da soli, le membrane hanno ottenuto un miglior risultato degli innesti (sia da sole che usate in combinazione con gli innesti) in termini di variazione ossea orizzontale.

Nessuna meta-analisi è stato possibile eseguire sui risultati correlati agli impianti, dovuta alla mancanza di dati sufficienti.

In questo studio l'utilizzo di un approccio chirurgico a lembo e di un innesto osseo combinato a membrane ha permesso di ridurre notevolmente la contrazione sia in senso verticale che orizzontale delle creste alveolari post-estrattive, in linea con le meta-analisi della review riportate.

In alcuni pazienti inoltre, in cui il processo infiammatorio aveva determinato il riassorbimento e la perdita della parete vestibolare della cresta alveolare, la tecnica rigenerativa impiegata ha permesso di ricostruire tale volume osseo perduto e permettere in un secondo momento il posizionamento degli impianti senza ricorrere ad altre chirurgie ricostruttive.

Gli elementi di novità rappresentati da questo studio sono da un lato l'impiego della PRF, un concentrato piastrinico di ultima generazione, le cui proprietà sono state descritte precedentemente e che ha accelerato le fasi di guarigione soprattutto dei tessuti molli, consentendo di ottenere una chiusura dei lembi guariti per seconda intenzione a distanza di 14 giorni nella quasi totalità dei pazienti.

Ma il più importante elemento di novità è sicuramente rappresentato dall'impiego della terapia fotodinamica laser-assistita durante la fase pre-operatoria e durante l'intervento chirurgico.

La terapia fotodinamica può essere definita come l'eradicazione delle cellule bersaglio per mezzo delle specie reattive dell'ossigeno prodotte per mezzo di un fotosensibilizzante e una luce di un'adeguata lunghezza d'onda. Essa può rappresentare un'alternativa per bersagliare i batteri direttamente nel sito di infezione scavalcando i problemi correlati agli antibiotici.

La terapia fotodinamica implica tre componenti: il fotosensibilizzante, la luce e l'ossigeno. Quando un fotosensibilizzante è irradiato con una luce di una specifica lunghezza d'onda subisce una transizione da uno stato a bassa energia a uno stato singoletto di eccitazione. Conseguentemente può decadere al suo stato precedente, con emissione di fluorescenza, o può subire una transizione a uno stato tripletto di maggior energia. Lo stato tripletto può reagire con l'ossigeno endogeno per produrre ossigeno singoletto e altri radicali, causando una distruzione rapida e selettiva del tessuto bersaglio. La terapia fotodinamica produce effetti citotossici sugli organelli e molecole subcellulari, che comprendono i mitocondri, lisosomi, membrane cellulari e nuclei di cellule tumorali (40).

La terapia fotodinamica negli studi *in vitro* ha mostrato una notevole (> 95%) riduzione dei microrganismi e anche gli studi clinici sono incoraggianti.

Esistono due grandi famiglie di laser utilizzate in odontoiatria:

- 1) Laser poco penetranti, la cui lunghezza d'onda varia dai 2940 ai 10600 nm circa e il cui raggio viene assorbito direttamente dai tessuti bersaglio determinando effetti ablativi in superficie.
- 2) Laser penetranti, la cui lunghezza d'onda varia dagli 800 ai 1340 nm circa e il cui raggio determina effetti decontaminanti e biostimolanti in profondità nei tessuti bersaglio.

È quest'ultima famiglia di laser che viene utilizzata in tutti i trattamenti decontaminanti e biostimolanti laser-assistiti.

Per il trattamento, è necessario penetrare nei tessuti al di sotto della soglia degli effetti visibili (che sono vaporizzazione, carbonizzazione, coagulazione e vasodilatazione, provocati da un raggio laser ad alta intensità e potenza).

Per questo tipo d'azione, i laser pratici, utili ed efficaci sono principalmente i laser a diodi, che, grazie a una lunghezza d'onda compresa tra gli 800 e 980 nanometri, sono tra i laser più penetranti.

Sono stati effettuati diversi studi in vitro per verificare l'azione battericida dell'irradiazione laser e del perossido di idrogeno singolarmente e in associazione sui patogeni parodontali. I risultati ottenuti da tutti i test microbiologici hanno mostrato che solo *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.A.) e *Prevotella intermedia* (P.I.) sono sensibili a un antisettico ossidante come il perossido di idrogeno.

Solo A.A. è sensibile all'irradiazione laser usata singolarmente.

Invece tutti i batteri parodonto-patogeni abituali sono sensibili al protocollo "perossido di idrogeno + laser".

È la presenza di ossigeno all'interno delle cellule che permette le reazioni fotochimiche e la formazione di ossigeno singoletto. È quindi necessario

irrigare i tessuti con del perossido di idrogeno al 3% al fine di ossigenare i tessuti bersaglio in profondità. L'acqua ossigenata a 10 volumi è depositata negli alveoli post-estrattivi e lasciata in sito per qualche minuto. I parametri che devono essere impostati sul laser sono i seguenti:

- Potenza: 2,5 watt
- Frequenza: 7000 Hz (che corrisponde a 7000 impatti al secondo)
- Timer: nessuno, è il tempo d'azione, scelto dall'operatore, sul pedale che determina la durata dell'irradiazione
- Tempo di riposo (T off): 70% per ridurre il riscaldamento dei tessuti ed evitare gli effetti fototermici del laser
- Fibra ottica da 400 micron, ideale per i trattamenti parodontali.

La fibra laser viene inserita all'interno dell'alveolo post e attivata compiendo dei frequenti movimenti di va e vieni. Se necessario, è possibile reintrodurre dell'acqua ossigenata a 10 volumi nel sito. Alla fine del trattamento è possibile osservare del sangue ossigenato all'interno dell'alveolo, senza alcuna carbonizzazione dei tessuti, che consentirà una buona guarigione dei tessuti.

L'azione biostimolante si accompagna sempre all'azione fotodinamica decontaminante del laser, ma un'ulteriore effetto biostimolante può essere ottenuto grazie all'utilizzo delle lenti defocalizzate specifiche che equipaggiano il laser (fibra da 600 micron, 2,5 watt in modalità continua). Gli effetti di questa biostimolazione sono antalgici, antinfiammatori, riparativi e protettivi del sistema immunitario.

L'effetto della terapia fotodinamica laser assistita può giocare un ruolo importante nei processi di guarigione dell'alveolo post-estrattivo e concorrere a ridurre la contrazione in senso verticale e orizzontale della cresta alveolare.