

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA

Dottorato di ricerca in Fisiopatologia e genetica delle malattie  
osteometaboliche

Ciclo XXII

Gli innesti sagomati di osso omologo in chirurgia preimplantare:  
uno studio clinico randomizzato

Coordinatore:

Chiar.mo Prof. Roberto Delsignore

Tutor:

Chiar.mo Prof. Guido M. Macaluso

Dottorando: Edoardo Manfredi

## INDICE

• INTRODUZIONE	Pagina 3
• MATERIALI E METODI	Pagina 29
• RISULTATI	Pagina 52
• DISCUSSIONE	Pagina 64
• BIBLIOGRAFIA	Pagina 69

# INTRODUZIONE

Le perdite di sostanza ossea e la loro riparazione hanno sempre rappresentato un capitolo “peculiare” della chirurgia riparativa ossea, sia essa ortopedica, plastica, maxillo-facciale o orale. Oltre all’osso autologo, ad oggi il “golden standard” (1) nel ripristino di sostanza ossea perduta, sono stati proposti ed utilizzati nel corso del tempo svariati materiali; ad essi viene richiesto un arduo compito: sostituire il nostro tessuto osseo in ogni aspetto strutturale, meccanico e funzionale. Nel nostro studio clinico randomizzato abbiamo utilizzato e confrontato due tipologie di questi materiali: l’osso autologo e l’osso omologo.

## CENNI DI ANATOMIA OSSEA MICRO E MACROSCOPICA

Il tessuto osseo è un tessuto connettivo che ha la peculiarità di possedere una matrice extracellulare notevolmente mineralizzata. Esso è formato da una porzione cellulare e da una matrice extracellulare che comprende una componente organica ed inorganica. La matrice inorganica costituisce il 65% del peso a secco dell’osso ed è formata principalmente da fosfato e carbonato di Ca (responsabile delle caratteristiche di durezza e rigidità del tessuto). La matrice organica è fondamentalmente costituita da fibre collagene, proteoglicani e glicoproteine, che garantiscono elasticità e resistenza alla trazione. La componente cellulare è invece preposta alla formazione, al mantenimento dell’omeostasi tissutale e al riassorbimento della matrice. Macroscopicamente l’osso si distingue in osso compatto (corticale) ed osso spongioso (midollare). Entrambi presentano una struttura a lamelle disposte a strati paralleli, disposte lungo le linee di carico. Nell’osso corticale le lamelle sono fittamente addensate, a formare una massa solida (corticale ossea), mentre nell’osso spongioso danno origine ad una fine struttura trabecolare che

contiene e protegge al suo interno il midollo osseo, responsabile dell'emopoiesi. Questi due compartimenti ossei sono presenti in quasi tutte le ossa, ma in diversa percentuale e distribuzione: l'osso corticale è infatti periferico e maggiormente rappresentato nelle ossa lunghe ed in quelle piatte, che hanno funzione di supporto meccanico e protezione. Le lamelle contengono inoltre cellule mesenchimali, gli osteociti, accolte in lacune ossee e collegate tra loro mediante una fitta rete di canalicoli. Questi, comunicando a loro volta con i canali di Havers e di Volkmann, e di conseguenza con i vasi sanguigni in essi contenuti, permettono gli scambi metabolici e gassosi tra sangue ed osteociti.

**Periostio ed endostio:** il periostio è la lamina fibrosa che riveste in superficie tutte le ossa, ad eccezione delle superfici articolari e delle inserzioni tendinee. Comprende due strati: uno esterno compatto e vascolarizzato, uno interno ricco di fibroblasti e di osteoblasti, le lining cells. Il periostio riesce ad ancorarsi alle lamelle circolari esterne dell'osso tramite fibre collagene disposte perpendicolarmente alla superficie, chiamate fibre di Sharpey. Il periostio ha, in primis, una funzione trofica sull'osso, tramite i vasi che, attraversandolo, penetrano all'interno dei canali di Havers e Volkmann, ed un importante ruolo negli scambi metabolici, ionici e nella distribuzione della differenza di potenziale elettrochimico attraverso la sua membrana. Ricopre una fondamentale importanza anche nei processi riparativi, poichè è ricco di cellule progenitrici mesenchimali multipotenti. L'endostio, riveste le cavità diafisarie dell'osso spugnoso nonché i canali vascolari.

**Matrice organica dell'osso:** la matrice organica dell'osso è formata da fibre collagene e sostanza amorfa. Le fibre collagene sono prevalentemente di tipo I, caratterizzate da una tripla elica formata da due catene polipeptidiche alfa-1 ed una catena alfa-2 (tropocollagene). Tale struttura differisce di poco da quella del collagene presente in altri tessuti (dentina, cute) mentre è nettamente diversa da quella del collagene di tipo II e tipo X presente nella cartilagine, in cui la tripla elica è formata da tre subunità alfa-1 tra loro

identiche. Da un punto di vista biochimico sono presenti in gran quantità glicina, prolina, idrossiprolina ed idrossilisina. I precursori proalfa-1 e proalfa-2 della catene alfa sono sintetizzati dagli osteoblasti. Nella matrice organica si possono trovare, seppur in minor quantità, fibre collagene di tipo II, III, V e X.

La sostanza amorfa è costituita da proteoglicani e glicoproteine non collageniche. L'osteonectina è una glicoproteina presente, anche se in minor quantità, in tessuti non ossei in crescita attiva, ed avrebbe un ruolo fondamentale nelle fasi iniziali del processo di mineralizzazione (2).

Altre proteine isolate nella matrice organica sono, osteopontina, silaoproteine I e II e diverse proteine plasmatiche e fosfoproteine (3).

**Matrice inorganica dell'osso:** nell'adulto costituisce il 65% del peso secco dell'osso, ed è rappresentata da calcio (99% del calcio del nostro organismo) fosforo, sodio, cloro e fluoro. Le componenti inorganiche, responsabili della durezza e resistenza alla compressione dell'osso, possono presentarsi in due forme: una fase amorfa ed una fase cristallina. La prima è formata da fosfati secondari idratati oppure octacalcici, la seconda da cristalli di idrossiapatite, disposti parallelamente alle fibre collagene, che appaiono come aghi lunghi mediamente 300 Angstrom e larghi 150 Angstrom.

**Componente cellulare dell'osso:** osserviamo almeno cinque diversi tipi cellulari all'interno del tessuto osseo : i preosteoblasti, gli osteoblasti, gli osteociti, le bone lining cells e gli osteoclasti. Queste cellule appartengono a linee diverse: gli osteoclasti derivano infatti dalle cellule staminali emopoietiche, gli altri quattro tipi derivano invece da cellule mesenchimali indifferenziate. Osteoclasti ed osteoblasti lavorano in team cellulari, le Bone Multicellular Units (BMU) che provvedono al continuo ricambio del tessuto osseo attraverso un'incessante opera di riassorbimento e deposizione di nuovo osso. Questo processo prende il nome di turn-over.

Gli osteoclasti, individuati da Kolliker nel 1873, hanno un'origine extrascheletrica. I loro progenitori sono cellule mononucleate che originano nel midollo osseo, nel fegato e nella milza, e successivamente migrano per via ematica verso il tessuto osseo. Il precursore è il promonocita, lo stesso che con un altro percorso origina monociti e macrofagi (4). Tale precursore, arrivato a livello periostale durante lo sviluppo fetale, si differenzia in cellule mononucleate (preosteoclasti) che fondendosi formano osteoclasti maturi. Questi sono sincizi polinucleati (15-30 nuclei) di grandi dimensioni (150-200 micron di diametro) localizzati su superfici ossee in via di riassorbimento. Presentano nella zona aderente all'osso un orletto a spazzola attraverso il quale secernono dapprima anidrasi carbonica che dissolve i cristalli di idrossiapatite, poi enzimi collagenolitici (proteasi acide). Gli osteoclasti presentano anche recettori per il paratormone (PTH) e la calcitonina. L'azione di PTH nel controllo del riassorbimento osseo è complessa. PTH stimola l'espressione di Receptor Activator of Nuclear Factor kB Ligand (RANKL), una proteina membro della famiglia dei Tumor Necrosis Factor necessaria per il differenziamento degli osteoclasti ed il supporto alla loro sopravvivenza e all'attività osteolitica, tramite il legame con un recettore specifico, RANK, presente sulla superficie dei precursori osteoclastici (5-6).

Gli osteoblasti derivano da cellule stromali indifferenziate capaci di differenziarsi in cellule osteoprogenitrici ed in altri precursori mesenchimali, quali condrociti ed adipociti. Modificazioni ambientali di tipo biochimico, meccanico, vascolare o piezoelettrico avvierebbero la differenziazione dei preosteoblasti in osteoblasti. Gli osteoblasti sono cellule più piccole degli osteoclasti (20-50 micron di diametro), rotondeggianti, e si trovano a livello delle aree in via di espansione, spesso raccolte a formare strati epitelioidi cuboidali. Depongono e regolano la formazione di tessuto osseo mediante la produzione di collagene, osteonectina, osteocalcina, prostaglandina E2, sialoproteine, glicosaminoglicani, proteoglicani, fosfoproteine, collagenasi e attivatori del plasminogeno. Una volta costituita la trama di fibre collagene, questa viene mineralizzata tramite un

complesso processo che coinvolge siti di nucleazione offerti dalla struttura proteica della matrice extracellulare e vescicole della matrice ricche di calcio prodotte dagli osteoblasti . Gli osteociti sono le cellule principali dell'osso maturo; presentandosi in diverse fasi evolutive hanno forma e dimensioni variabili. Generalmente il corpo è appiattito ed è accolto in spazi chiamati lacune osteocitarie. I numerosi prolungamenti sono invece alloggiati nei canalicoli ossei, ed hanno sia funzione trofica sia di controllo dell'omeostasi ossea. A lungo considerate cellule quiescenti, il loro ruolo è stato profondamente rivalutato dalla scoperta di una proteina specifica, sclerostin, che controllando il differenziamento degli osteoblasti, dirige la neoformazione ossea a partire da stimoli di tipo ormonale e meccanico.

Le bone lining cells rappresentano una popolazione di cellule di origine mesenchimale, di morfologia appiattita che è presente nell'adulto a livello delle superfici ossee inattive. Nonostante siano dotate di capacità replicative e di un turn-over, la loro funzione non è ancora chiara, e potrebbero essere coinvolte nella formazione di strutture a tenda, dette canopy, che creano compartimenti selettivi all'interno dei quali possono operare le BMU.

I preosteoblasti hanno forma fusata, spindle shaped, e si trovano nello strato profondo del periostio e dell'endostio, all'interno dei canali di Havers e Volkmann e all'interfaccia con le cartilagini di accrescimento. Danno origine agli osteoblasti o ad altre cellule progenitrici.

## LE OSSA MASCELLARI

Il volume osseo è il fattore locale determinante nell'inserimento terapeutico di uno o più impianti. Gli impianti sono infatti destinati alla sostituzione delle radici degli elementi dentali persi e, come è intuitivo, il volume osseo deve essere sufficiente ad accogliere l'impianto stesso, nonostante il volume di questo sia inferiore a quello del dente che occupava la stessa sede. Il mantenimento del volume osseo diventa una procedura

terapeutica peculiare delle ossa mascellari in quanto esse sono le uniche ossa del corpo umano volumetricamente instabili nel tempo. L'osso alveolare in assenza di carico si può quindi considerare un'entità biologica peculiare che risponde a parametri e meccanismi biologici particolari.

La morfologia delle ossa viene determinata da una serie di fattori che nell'ordine si possono riassumere in:

1. La formazione di una massa cellulare (detta "condensazione cellulare") che è all'origine della costruzione ossea
2. L'attivazione e regolazione di una serie di geni responsabili del differenziamento cellulare
3. L'attivazione di geni che permettano funzioni cellulari specifiche (come la sintesi di matrice extracellulare e la mineralizzazione di questa)

Ognuno di questi passaggi richiede specifiche cascate di fattori di trascrizione e di molecole di segnale che attivino o sopprimano geni. La determinazione e il mantenimento della morfologia scheletrica nella vita di un individuo, segue questi tre fattori.

Una seconda precisazione derivata dalla genetica riguarda i meccanismi riparativi in generale e, in particolare, la guarigione ossea; sebbene lo sviluppo termini con la maturazione sessuale e la crescita termini con le dimensioni dell'età adulta, in alcuni tessuti specializzati come l'osso, alcuni meccanismi morfogenetici possono essere riattivati come conseguenza di un trauma. E' noto come la riparazione del tessuto osseo segua lo schema dello sviluppo embrionale, con la differenza che in età adulta il fattore scatenante è dato da un trauma, mentre nella vita embrionale avviene a causa delle interazioni epitelio-mesenchimali.

## SCHEMA SCHELETRICO E RUOLO CELLULARE

I differenti tipi di scheletro sono tre:

1. Lo scheletro cranio-facciale
2. Lo scheletro degli arti
3. Lo scheletro assiale

In realtà, lo scheletro umano dovrebbe essere diviso in quattro sezioni: lo scheletro dento-alveolare rappresenta infatti un'entità distinta dallo scheletro cranio-facciale e le considerazioni a giustificazione di ciò verranno espresse più avanti. Lo scheletro cranio-facciale è formato dalle cellule mesenchimali che provengono dalle creste neurali che originano dal tessuto ectodermico, mentre le cellule che formano lo scheletro assiale e degli arti originano dal mesoderma. Studi sui fattori di trasmissione animali hanno confermato che processi di signaling diversi tra tipi di scheletri differenti conducono a processi di ossificazione diversi tra lo scheletro cranio-facciale e lo scheletro assiale e degli arti.

Infatti, le ossa neurocraniali, incluse la mandibola e le ossa mascellari (ma ad eccezione del condilo mandibolare), così come parte della clavicola, sono originate per ossificazione membranosa. L'ossificazione membranosa è un processo di ossificazione diretta senza la fase cartilaginea, nella quale osteoblasti differenziati, attraverso la condensazione di cellule mesodermiche ed ecto-mesodermiche, portano alla formazione di matrice ossea.

Lo scheletro assiale e degli arti segue invece lo schema dell'ossificazione endocondrale, nella quale un'impalcatura cartilaginea viene mineralizzata e successivamente vascolarizzata, permettendo l'arrivo di condroclasti (che portano al riassorbimento della matrice cartilaginea calcificata) e la differenziazione degli osteoblasti che sostituiscono lo

scaffold cartilagineo con matrice ossea, la quale porterà alla formazione della struttura delle ossa lunghe.

Sebbene non vi siano differenze istologiche tra la morfologia e l'attività degli osteoblasti periostali delle ossa craniali e quelli mandibolari, questi differiscono per il processo di specializzazione, in quanto possono considerarsi sito-specifici. La condizione di sito-specificità giustifica ad esempio come vi siano risposte cliniche differenti ad una stessa tecnica chirurgica applicata in zone orali diverse.

Un'altra differenza tra i vari tipi di scheletro è la crescita ossea: mentre lo scheletro assiale e degli arti è costituito da ossa lunghe che crescono in lunghezza e larghezza, lo scheletro cranio-facciale è formato da ossa piatte, o da ossa di forma e volume variabile, con o senza cavità pneumatiche, che si accrescono in superficie e volume. Inoltre, a differenza delle ossa lunghe, le ossa dello scheletro craniale possiedono centri di crescita ossea multipli e si connettono tra loro tramite adattamenti della propria forma, le suture. In questo contesto, l'osso alveolare può essere considerato un'entità indipendente. Una delle differenze maggiori sta nel fatto che il centro di crescita dell'osso alveolare è sito nell'organo dentale; possiamo considerare infatti il complesso "dento-alveolare" come il continuum biologico di tre elementi anatomici (dente, legamento parodontale e osso alveolare) indipendenti ma embriologicamente e fisiologicamente connessi. Questa unica specificità porta ad un comportamento fisiologico peculiare, diverso da quello degli altri scheletri.

Possiamo quindi considerare la forma e il volume delle ossa mascellari e della mandibola come il frutto di fattori genetici, della modulazione epigenetica da parte degli stimoli dei muscoli oro-facciali e della relazione occlusale tra il complesso dento-alveolare mascellare e mandibolare. Se gravi problemi di occlusione insorgono durante il periodo dello sviluppo, l'accrescimento del mascellare e della mandibola verrà ostacolato.

Oltre ai centri di crescita interni, la morfologia delle ossa è definita anche dall'accrescimento provocato dal rivestimento periosteale, che condiziona la forma esterna delle ossa stesse. A differenza dei centri di crescita interni, le superfici periosteali sono accessibili e possono essere sfruttate come "superfici terapeutiche".

Ogni trauma osseo risulta in una reazione cellulare che conduce a una condensazione di cellule che aumenta fino a diventare una massa cellulare critica, sotto lo stimolo di fattori di adesione, proliferazione e compattazione. La massa cellulare critica rappresenta una potenziale fonte cellulare sufficiente a riparare un difetto; nel caso che incorrano sproporzioni tra il potenziale riparativo della massa cellulare e l'entità del danno, si avrà perdita di tessuto osseo.

La presenza di malformazioni o crescita anormale legate a cause genetiche e/o epigenetiche può, ad esempio, compromettere una relazione intermassellare corretta, la quale verrà compensata dal sistema dento-alveolare il quale, a sua volta, potrà subire più o meno marcati difetti dell'osso alveolare, mancata eruzione o malposizionamenti dentali. Alla stessa maniera, una deformazione genetica dentale (ad esempio la microdonzia) può avere conseguenze sull'osso alveolare che compensa la ridotta altezza dentale accrescendosi per avere una dimensione verticale corretta. Ciò a dimostrazione che nonostante il volume osseo sia geneticamente determinato, questo può essere modificato da fattori epigenetici.

Un ridotto volume osseo può essere conseguenza di un fattore locale: agenesie dentali ed edentulie provocano creste atrofiche.

La perdita di osso alveolare conseguente alla perdita di uno o più elementi dentali è una condizione unica nell'organismo umano: nessuna delle ossa dello scheletro assiale, degli arti o cranio-facciale presenta un fenomeno simile. Anche l'osteoporosi conseguente al mancato carico di un osso, non esita mai in una modifica di forma.

Anche i meccanismi riparativi del tessuto osseo presentano marcate differenze a seconda del tipo di scheletro a cui appartiene l'osso danneggiato: così come nei processi di sviluppo, anche nei traumi occorsi in età adulta le ossa piatte e l'osso alveolare mancano delle fasi di condrogenesi e ossificazione endocondrale, presenti invece nelle ossa lunghe. La condrogenesi e la successiva ossificazione sono strettamente collegati ad un grado di ipossia locale e scarsa vascolarizzazione, sicchè possono essere occasionalmente presenti in casi di innesti di osso corticale.

La guarigione dell'osso alveolare avviene in tre passaggi: la reazione immediata al trauma, con la formazione del coagulo, il rilascio di citochine e di fattori di crescita; la differenziazione degli osteoblasti con la formazione di osso immaturo; il rimodellamento dell'architettura ossea in base agli stimoli locali.

## RIPARAZIONE OSSEA E VOLUME

I processi di guarigione legati ad una perdita di volume osseo sono condizionati fondamentalmente da due fattori: uno è relativo all'insufficienza del materiale di guarigione interno, il secondo ad assenza delle pareti esterne.

Nel primo caso, il volume da riempire è limitato e definito dalle pareti esterne e la perdita di osso deriva da un bilancio negativo tra l'attività osteoriassorbitiva e osteoformativa. Nel secondo caso, le pareti ossee esterne mancano e con esse viene meno il loro ruolo di guida e supporto nei confronti del coagulo prima e dell'osso neoformato successivamente. Questo avviene, ad esempio, nel caso di avulsioni dentali con la frattura della parete vestibolare o di alveolectomie: la guarigione ossea avviene anche in questo caso, ma con una riduzione del piatto osseo vestibolare che complica l'inserimento successivo di un impianto.

E' necessario notare come, a differenza di lesioni della parete vestibolare, alterazioni all'interno delle pareti ossee (come il setto interradicolare) non si trasformano in perdita ossea. La differenza della risposta rigenerativa di zone diverse, si giustifica con la sito-specificità del fenomeno riparativo stesso, che attiva segnali diversi a seconda dell'area interessata.

L'aumento di volume osseo crestale prevede un'ampio panorama di tecniche chirurgiche con differenti indicazioni a seconda della zona da trattare e del tipo ed entità di atrofia presente. Tra queste, la tecnica utilizzata nel presente studio è quella dell'innesto osseo a blocco.

Questa tecnica viene definita come la trasposizione di un blocco di osso verso un sito ricevente laterale o verticale. Nel caso dell'innesto di osso autologo (nel quale è ovviamente previsto un sito donatore nello stesso soggetto), il blocco può essere costituito da osso corticale, da osso trabecolare o da entrambi. Il mantenimento dell'architettura del prelievo consente la guarigione del difetto tramite meccanismi complessi che includono i fenomeni di osteoconduzione, osteoinduzione e osteogenesi diretta.

La sopravvivenza della componente cellulare è strettamente dipendente: dalla qualità della procedura chirurgica (durata e invasività dell'intervento), dalla rivascolarizzazione precoce, che dipende dal sito ricevente, dalla preparazione di quest'ultimo e dall'immobilizzazione dell'innesto.

La reazione che intercorre tra l'innesto e il sito ricevente può essere paragonata a quella che avviene nella formazione del callo osseo in una rima di frattura, con la differenza che le strutture sono sovrapposte piuttosto che formare una struttura anatomica continua.

Contemporaneamente all'attivazione e differenziazione delle cellule che giungono nel sito ricevente attraverso il periostio e alla rivascolarizzazione, si ha la morte delle cellule superficiali dell'innesto e la comparsa di una reazione osteoclastica la cui entità dipende dalla velocità della rivascolarizzazione stessa. L'attività osteoclastica si traduce nella

creazione di tunnel all'interno dell'innesto, indispensabile per eliminare il tessuto necrotico, che permette la colonizzazione secondaria delle nuove superfici formatesi ed il rimodellamento del tessuto in base alle esigenze meccaniche. Nonostante il completo rimodellamento di un innesto necessiti di circa 2-3 anni, tutti gli innesti si possono considerare funzionali al posizionamento implantare in alcuni mesi.

## IMPLANTOLOGIA ED OSTEOINTEGRAZIONE

Gli impianti osteointegrati sono normalmente costituiti di Titanio. Il titanio puro (>99% in peso) è un metallo molto tenace, le cui caratteristiche possono essere variate aggiungendo o sottraendo ossigeno. Particolarmente usato per i rivestimenti superficiali è il titanio di tipo 4, cioè a più elevato contenuto in ossigeno, vale a dire con duttilità e resistenza maggiore. Molto diffuse pure le leghe del titanio, tra le quali meritano una menzione particolare la "classica" lega Ti-6Al-4V (la sigla non è altro che la formula della composizione con le percentuali in peso degli elementi principali), la più recente Ti-5Al-2.5Fe, e le leghe contenenti Niobio in sostituzione del Vanadio che aveva suscitato qualche perplessità in fatto di tollerabilità. Il titanio, a contatto con l'ambiente tissutale viene ricoperto da uno strato di ossidi quali TiO, TiO<sub>2</sub>, TiO<sub>3</sub> per una passivazione spontanea, che mantiene i fenomeni corrosivi a livelli molto bassi, per quanto non totalmente assenti.

I primi studi sul rapporto tra impianti endossei e tessuto osseo risalgono agli anni '50 e '60, ad opera di Leventhal,(7) Pasqualini(8) o Berg ed Emnèus (9), ma è solo attraverso le ricerche di Brånemark (10-12) che il concetto di osteointegrazione prende corpo.

Di fronte al reperto pressochè costante di incapsulamenti fibrosi degli impianti a lama, Brånemark, mediante l'utilizzo di impianti cilindrici in titanio (11), giunse a verificare la

possibilità di un contatto diretto tra osso e superficie del manufatto implantare, che chiamò per l'appunto ostointegrazione.

Venne pertanto stravolto il concetto di integrazione osteo-fibrosa come era stato sostenuto da Linkow, James, o Babbush (13-15) fino alla fine degli anni 70 e che ancora nel 1986 l'American Academy of Implant Dentistry definiva come:

*“... la presenza di tessuto collagene sano e compatto tra impianto ed osso in grado di vicariare le funzioni del ligamento parodontale...”(16).*

Ad oggi l'utilizzo di impianti osteointegrati è diventato un intervento routinario che ha una grande predicibilità e percentuali di successo (secondo i criteri di Albrektsson (17)) elevate (17,18)

## INNESTI OSSEI

Quando le condizioni della cresta edentula da riabilitare sono sfavorevoli a causa dell'atrofia residua dopo estrazione, parodontite o trauma può essere presente un volume osseo inadeguato per una corretta inserzione degli impianti, sia dal punto di vista funzionale che estetico. Negli anni sono state proposte varie classificazioni di atrofia delle creste edentule, noi abbiamo fatto riferimento a quella più citata in letteratura: la classificazione di Cawood e Howell (19) (Figura 1), che viene qui di seguito riportata:

- Classe I: cresta dentata;
- Classe II: alveolo post-estrattivo immediato;
- Classe III: processo alveolare arrotondato con spessore ed altezza sufficienti;
- Classe IV: cresta a bordo tagliente (a lama di coltello) con altezza sufficiente ma spessore insufficiente;
- Classe V: cresta piatta con riassorbimento rilevante sia in senso longitudinale sia trasversale;
- Classe VI: cresta depressa con totale scomparsa del processo.

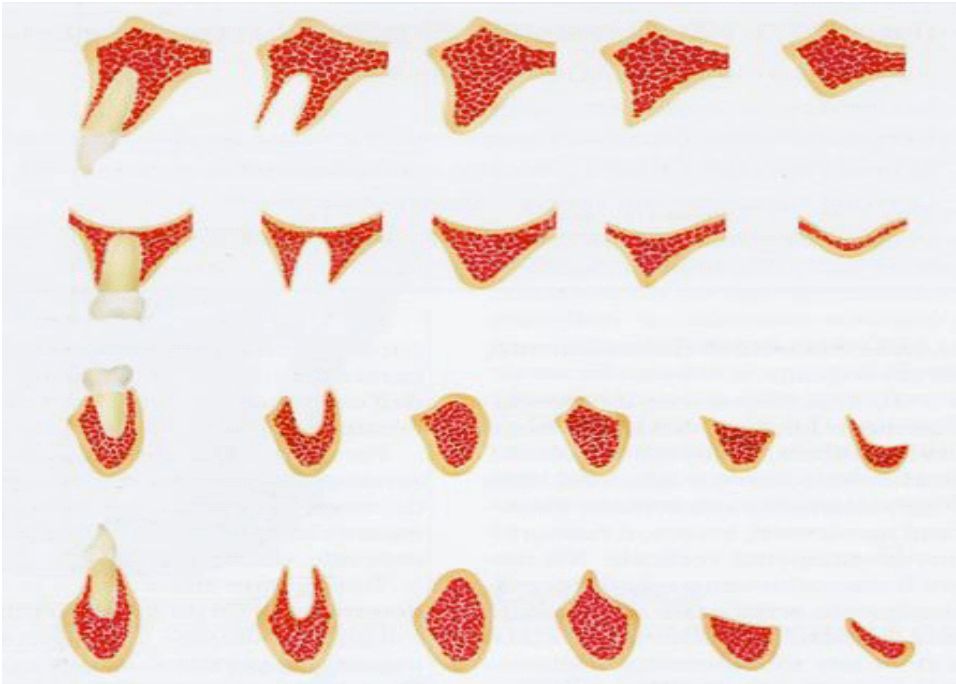


Fig. 1: da sn a dx creste edentule da I a VI secondo la classificazione di Cawood-Howell

Attualmente sono disponibili numerosi materiali per il trattamento dei deficit di volume osseo delle creste edentule atrofiche:

- Osso autologo
- Osso omologo (demineralizzato o mineralizzato)
- Osso eterologo (matrice minerale ossea purificata da fonti bovine, suine, equine, ecc.)
- Materiali alloplastici (idrossiapatite,  $\beta$ -fosfato tricalcico, acido polilattico, acido poliglicolico)

In funzione della tipologia di innesto utilizzato, le reazioni cellulari che si producono all'interno della compagine ossea sono essenzialmente di tre tipi: osteogenesi, osteoinduzione ed osteoconduzione (20, 21).

Osteogenesi: Si verifica grazie alla presenza nel materiale innestato di elementi cellulari o cellule progenitrici degli osteoblasti, che inducono direttamente, insieme agli osteoblasti

del sito ricevente, la formazione di tessuto osseo mineralizzato. Le cellule che possiedono questa capacità provengono:

- dal periostio nel 25- 30%;
- dalla zona intracorticale nel 20-30%;
- dal midollo osseo nel 40-60%;

Questo tipo di rigenerazione si può ottenere solo attraverso l'inserimento di innesti autogeni, poiché altri tipi di innesto non forniscono elementi cellulari.

Osteoinduzione: È la capacità dell'innesto di indurre la trasformazione delle cellule mesenchimali totipotenti in cellule osteoblastiche e condroblastiche (21). Negli ultimi anni, le citochine osteoinduttive, tra cui le proteine morfogeniche dell'osso (BMP), sono state valutate in diversi modelli ortotopici ed eterotopici (22-24), ed in particolar modo con l'avvento della tecnologia ricombinante del DNA è stata studiata una variante di queste BMP, cioè la proteina morfogenica umana ricombinante-2 [(rhBMP-2) Genetics Institute], la quale esercita un evidente effetto osteoblastico-differenziante sulle caratteristiche fenotipiche delle cellule staminali. Un problema reale sull'utilizzo di tali citochine è dato dall'impiego di un veicolo per il loro rilascio graduale durante il processo di riparazione ossea.

Osteoconduzione: interessa materiali che permettono l'apposizione di osso da osso già esistente, e richiedono la presenza di osso o di cellule mesenchimali già differenziate. Un materiale osteoconduttivo inserito in tessuti molli non determina formazione di osso. Da un punto di vista biologico è fondamentale l'azione di "scaffold" o stampo svolta da qualunque tipo di innesto o impianto sufficientemente rigido: il materiale viene progressivamente sostituito da osso neoformato che viene guidato dall'impalcatura inorganica. L'osso autologo è ancora considerato il "golden standard" tra tutti i materiali disponibili per gli innesti in chirurgia ricostruttiva preimplantare(1), poiché racchiude in sé tutte queste proprietà, nonostante presenti alcuni inconvenienti derivanti dal suo uso:

elevata morbilità al sito donatore (sia esso intraorale od extraorale), quantità di osso disponibile limitata dalla sede di prelievo (prelievi intraorali dalla sinfisi mentoniera o dalla branca montante della mandibola), e qualità dell'osso scarsamente predicibile (25). Per superare queste limitazioni, i clinici e l'industria si sono rivolti ad altri tipi di materiali, con prevalenti proprietà osteoconduttive. Il grosso vantaggio dell'osso autologo, è l'estrema compatibilità, poichè è riconosciuto dal sistema immunitario come "self", mentre altri materiali d'innesto possono provocare una risposta immunitaria in quanto riconosciuti come estranei (26, 27,28).

### INNESTI DI OSSO AUTOLOGO

La fisiologia della guarigione degli innesti di osso autologo, prevede tre fasi che si susseguono nel seguente modo. Dalle prime ore ai primi 2-4 giorni si va formando il coagulo ematico intorno all'innesto, con la presenza di un quadro infiammatorio che rappresenta la prima fase della riparazione. La vasodilatazione locale favorisce l'afflusso di leucociti e cellule pluripotenti dallo stroma vascolare adiacente. Questa **prima fase** di riorganizzazione del coagulo è mediata principalmente dalle piastrine, che hanno sia il compito di assicurare l'emostasi, sia il compito di liberare mediatori. Tra questi vanno ricordati il PDGF (platelet derived growth factor), TGF- $\beta$  (transforming growth factor  $\beta$ ), IGF 1,2 (Insulin-like growth factor 1,2). Il PDGF stimola la mitogenesi delle cellule staminali contenute nel midollo osseo e delle cellule endoteliali, favorendo così la neoangiogenesi. Il TGF- $\beta$  stimola la replicazione di fibroblasti e preosteoblasti, favorendo la loro trasformazione in osteoblasti maturi, e induce anche la deposizione di matrice osteoide da parte degli osteoblasti e di fibre collagene da parte dei fibroblasti. IGF 1 e 2 attivano gli osteoblasti dell'endostio. In questa fase diminuisce la tensione d'ossigeno ed il pH, favorendo così l'attività dei polimorfonucleati e dei macrofagi , i quali rimuovono detriti,

residui necrotici e partecipano attivamente alla chemotassi ed alla mitogenesi delle cellule coinvolte nel sito. A partire dal quinto giorno il coagulo primitivo si organizza nel cosiddetto tessuto di granulazione formato da neovasi, macrofagi e vari isotipi di collagene. Le fibrille collagene agiscono da iniziale impalcatura sulla quale le cellule pluripotenti si depositano e si differenziano in osteoblasti. Tali cellule provengono dal periostio, dall'endostio e dal circolo vascolare, richiamate dalle BMP e dal TGF- $\beta$ . Dal quattordicesimo giorno in poi le cellule infiammatorie diminuiscono, aumenta l'attività osteoclastica, gli osteociti contenuti nel tessuto innestato vanno incontro a necrosi e vengono fagocitati dai macrofagi. L'innesto viene colonizzato dai vasi sanguigni che, così facendo, trasportano nello spazio midollare le cellule mesenchimali pluripotenti. Numerose molecole che vengono prodotte e rilasciate a questo livello inducono la trasformazione delle cellule mesenchimali in senso osteogenico e regolano i meccanismi di riassorbimento osseo. Tra questi fattori osteoinducibili vanno ricordati: le BMP (di cui si conoscono diverse isoforme), TGF- $\beta$ , IGF-1, IGF-2, , FGF (Fibroblast Growth Factor), CDGF (Cartilage Derived Growth Factor), e le Interleuchine 1 e 6 che regolano il riassorbimento osseo (26). In una prima fase, grazie alla riperfusione tissutale, si assiste alla proliferazione degli osteoblasti sopravvissuti, i quali, pilotati principalmente dal PDGF e TGF- $\beta$ , inducono la mineralizzazione del tessuto osteoide tramite osteogenesi. Nelle prime quattro settimane dopo l'innesto, l'osso neoformato si presenta come osso spugnoso disorganizzato e senza sistemi haversiani. In questa fase, inoltre, il pH ritorna normale grazie alla ossigenazione dei tessuti e l'attività macrofagica diminuisce. La **seconda fase**, dopo la quarta settimana, è caratterizzata dal fenomeno dell'induzione dell'osteogenesi: il tessuto osteoide viene rimodellato e sostituito da osso a fibre intrecciate e successivamente lamellare. Dopo l'innesto dell'osteoiduzione (BMP, FGF, PDGF, IGF, IL-1, IL-6) comincia la **terza fase** caratterizzata dalla rapida proliferazione cellulare all'interno della struttura lacunare dell'osso innestato, il quale in questa fase riveste solamente la funzione di scaffold. Dalla

terza settimana in poi i processi riparativi si differenziano a seconda che l'osso innestato sia spugnoso o corticale (29,30).

**Oso spugnoso:** è l'osso con più marcate capacità osteogenetiche ed osteoinduttive: è ricco di cellule osteoprogenitrici (osteoblasti e cellule pluripotenti) per la presenza di midollo negli spazi intertrabecolari e la sua struttura risulta più adatta a mantenere in vita le cellule che non vanno incontro a necrosi dopo l'innesto; infatti consente un immediato apporto nutritivo per imbibizione plasmatica e favorisce in un secondo tempo una rapida penetrazione dei vasi. Nell'innesto di osso spugnoso si susseguono i seguenti eventi: 1) breve fase solamente osteogenica a livello dell'innesto 2) fase osteoinduttiva caratterizzata dalla trasformazione di cellule pluripotenti in osteoblasti 3) rimodellamento (creeping substitution): gli osteoblasti depositano matrice osteoide attorno a nuclei di cellule necrotiche, riassorbiti poi dall'azione osteoclastica.

**Oso Corticale:** La penetrazione vascolare inizia 5-6 giorni dopo l'intervento, è infatti necessario che prima venga riassorbita la corticale affinché i neovasi possano penetrare nei canali di Volkmann e di Havers. A causa di questo l'innesto sarà rivascolarizzato solo dopo 2 mesi dall'intervento chirurgico. A causa della rallentata riperfusione tissutale numerose cellule dell'innesto andranno incontro a necrosi. Dopo il completamento dell'angiogenesi inizia la "creeping substitution", con 2 differenze principali rispetto all'osso spugnoso: 1) il completo rimaneggiamento dell'osso spugnoso necessita di 12 mesi, mentre per l'osso corticale molto di più 2) l'innesto corticale va incontro a minor riassorbimento (29-32).

Come si comportano clinicamente gli innesti a blocco di osso autogeno? I dati più aggiornati in letteratura provengono da una review del 2009 (33), aggiornamento di una precedente del 2006 (34). Nella review del 2009 sono state esaminate 26 pubblicazioni, condotte su un totale di 893 pazienti (687 prelievi da ala iliaca, 44 da calvaria, 183 prelievi intraorali), in cui sono stati inseriti 4390 impianti. La perdita parziale dell'innesto dovuta ad

infezione o a deiscenza è successa nel 3,3% dei casi, la perdita totale dell'innesto nell'1,4% dei casi. Esiste una differenza di successo implantare a seconda che il tessuto sia stato innestato nella mandibola o nel mascellare superiore ed anche in funzione del timing di inserimento implantare rispetto alla procedura di innesto (Tabella 1).

<b>INTERVENTO</b>	<b>% di successo</b>
innesto mascellare con contestuale inserimento implantare	81,8%
innesto mascellare e inserimento implantare non contestuale	89,9%
innesto mandibolare con contestuale inserimento implantare	91,1%
innesto mandibolare e inserimento implantare non contestuale	100%

Tabella 1

Per quanto riguarda la variazione dimensionale verticale degli innesti le conclusioni della revisione sono state:

- il riassorbimento dell'innesto è maggiore nel primo anno dopo l'intervento
- il grado di riassorbimento medio varia molto in base al sito donatore: dall'ala iliaca varia tra il 12% ed il 60%, dalla calvaria tra lo 0% ed il 15%, non è stato possibile ottenere dati dagli innesti intraorali.
- gli autori raccomandano anche di utilizzare innesti cortico-midollari. L'osso trabecolare da solo, se non coperto con una membrana rinforzata in titanio, non offre sufficiente rigidità all'innesto e può completamente riassorbirsi.

Per quanto riguarda il riassorbimento orizzontale i dati sono stati ottenuti da 2 soli studi che riportano un riassorbimento orizzontale variabile tra il 10% ed il 50%.

Gli impianti inseriti dopo 6 mesi in osso innestato hanno la stessa stabilità degli impianti inseriti in osso nativo, non sono quindi giustificati tempi più lunghi di attesa tra le procedure di innesto e l'inserimento degli impianti.

## INNESTI DI OSSO OMOLOGO

Per innesto omologo si intende un intervento chirurgico che prevede il trapianto di tessuti tra 2 individui della stessa specie, ma non geneticamente uguali, come nel caso di 2 esseri umani che non siano gemelli monozigoti (Mosby's Medical Dictionary, 8th edition, 2009, Elsevier).

Alcuni autori hanno descritto una risposta immunologica a questo materiale se l'osso non viene adeguatamente trattato (30, 36). Per questo motivo l'osso omologo, sia da donatori viventi che da cadavere, è stato in passato trattato con liofilizzazione e demineralizzazione per ottenere DFDB ( demineralized freeze-dried bone) o FDB (freeze dried bone)(36,37). Una ridotta reazione immunologica è stata dimostrata, sia in studi preclinici su animali sia in studi sull'uomo, quando l'osso fresco viene conservato a bassa temperatura (fresh frozen bone o FFB)(38, 39). Altri studi hanno dimostrato che il potenziale osteogenico del FFB può essere conservato nonostante la crioconservazione (40). Tuttavia, va notato che la maggior parte della ricerca su questo materiale è stata condotta nel campo della chirurgia ortopedica ricostruttiva (41) e molto poco è stato pubblicato nella letteratura orale e maxillo-facciale (42), se non in tempi molto recenti (43-54).

Per quanto riguarda il processo di attecchimento degli innesti omologhi, esso non si discosta molto da quanto avviene per gli innesti di osso autologo. La fase iniziale del processo consiste nell'invasione del materiale trapiantato da parte del coagulo ematico, delle cellule endoteliali, delle cellule mesenchimali e infiammatorie provenienti dal sito accettore; l'innesto rappresenta lo "scaffold" sul quale il tessuto osteogenico può crescere. A distanza di circa 7 giorni dall'intervento chirurgico, si instaura un quadro infiammatorio del tutto simile a ciò che accade nell'innesto autologo. Nel frattempo inizia la

neoangiogenesi, anche se di entità ridotta a causa delle diminuite anastomosi vascolari per contatto. A causa di questo fattore l'innesto non viene rapidamente ricolonizzato da nuove cellule vitali e, al termine della seconda settimana, si instaura un quadro infiammatorio cronico. La fase osteogenetica comincia solo dopo 1 mese dall'intervento. È stato osservato che il rimodellamento dell'alloinnesto è molto più lento rispetto agli autoinnesti (28).

## PROCEDURA DI OTTENIMENTO DELL'OSSO OMOLOGO

Il tessuto muscoloscheletrico omoplastico (TMS) è di origine umana, si ottiene da donatore vivente (epifisi femorali per lo più) e da donatore cadavere (potenzialmente ogni tipo di segmento di varie forme e misure). Il tessuto osseo da impianto viene distribuito da banche del tessuto muscolo-scheletrico regionali e nazionali, specificatamente individuate in base all'art. 19 della legge 91/99 e in ottemperanza a quanto definito dalle "Linee guida per il prelievo, la conservazione e l'utilizzo di tessuto muscolo-scheletrico", approvate dalla Conferenza Stato – Regioni il 21/03/2002. Questo tessuto ha capacità osteoconduttive e può fornire supporto strutturale. Il congelamento eseguito in maniera appropriata non altera la BMP presente nell'osso: vengono quindi mantenute inalterate le capacità osteoinduttive. Il tessuto omologo crioconservato per la perdita completa della vitalità cellulare non è dotato ovviamente di capacità osteogenetiche. Si conserva congelato a – 80°C o a temperature inferiori con mantenimento pressoché integrale delle sue proprietà biomeccaniche iniziali; può essere utilizzato direttamente, subito dopo lo scongelamento. Non sono state documentate complicanze correlate all'istocompatibilità, poiché il tessuto viene conservato o trattato senza criopreservanti, anzi, perseguendo il fine di eliminare le componenti cellulari. Inoltre, grazie all'applicazione delle norme previste dagli standard di sicurezza del donatore, il rischio di trasmissione di malattie virali col TMS è a tutt'oggi

estremamente improbabile. Ogni tessuto deve essere rintracciabile: ciò significa che lo stesso deve essere accompagnato da documentazione digitale e cartacea che consenta in ogni momento di ricostruire la “storia” del tessuto, dal prelievo alla distribuzione. La rintracciabilità è quindi la più ampia garanzia, riconosciuta a chi riceve l’innesto, di poter individuare con esattezza eventuali problemi conseguenti all’innesto. La rintracciabilità è un requisito fondamentale affinché una banca possa essere legittimamente riconosciuta: solo strutture in grado di garantire la piena tracciabilità del tessuto distribuito possono essere formalmente accreditate ed autorizzate ad operare come banche. Lo strumento giuridico che consente la rintracciabilità del tessuto è il documento di impianto o scheda di avvenuto impianto o anche documento di registrazione del tessuto. L’obbligo per ogni Banca legittimata alla distribuzione di tessuto da allegare allo stesso il documento di impianto deriva dal fatto che la garanzia di rintracciabilità di ogni singolo tessuto distribuito è requisito essenziale ed imprescindibile affinché la banca stessa possa ottenere, dagli organi istituzionali preposti al Controllo ed alla Vigilanza in materia tessutale, la legittimazione giuridica a distribuire.

Il fondamento di tale obbligo in capo alle Banche si desume:

- dalla legge 14 1999, numero 91, art.15, comma secondo, a mente del quale i Centri di Conservazione (ovvero le Banche del tessuto) *“sono tenute a registrare i movimenti in entrata ed in uscita dei tessuti prelevati, inclusa l’importazione, secondo le modalità definite dalle Regioni”*
- dalle linee guide per il prelievo, la conservazione e l’utilizzo di tessuto muscolo-scheletrico approvate dal Centro Nazionale Trapianti e recepite in veste di formale accordo in Conferenza Stato Regioni nella seduta del 21/03/02 ( rep. ATTI n 1415 Presidenza del Consiglio dei Ministri), punto G. 1.1: *“devono essere mantenute le pratiche che documentano la destinazione del tessuto distribuito: utilizzo clinico o distruzione”*

- dalle predette linee guida al punto D.2.5.3.: *“rintracciabilità del donatore. Ad ogni tessuto deve essere assegnato una sigla ed un numero identificativo unico per quel tessuto che servirà come numero di lotto per identificare il materiale durante tutti i passaggi, dal prelievo fino alla distribuzione ed utilizzo. Questi sigla e numero unico devono mettere in relazione il tessuto già in fase di confezionamento finale con il donatore. La documentazione deve includere l’identificazione e la valutazione del donatore, l’esame del sangue e la valutazione microbiologica del donatore, verificate le condizioni nell’ambito delle quali il tessuto è stato prelevato, processato, testato ed immagazzinato ed indicare la destinazione del tessuti.”*

La nascita delle banche dei tessuti ha spostato “a monte” il sistema di responsabilità previsto nello specifico settore. Ora il chirurgo che effettua l’innesto non necessita di autorizzazione, e ciò comporta un’assenza di responsabilità in capo al medico purché egli:

- presti la necessaria diligenza e perizia nell’utilizzo chirurgico del tessuto
- effettui una formale attività di controllo sul tessuto
- informi adeguatamente il paziente
- effettui uno scrupoloso follow-up clinico

in buona sostanza al medico è riservata la responsabilità chirurgica, mentre una notevole parte di responsabilità viene attribuita al Direttore responsabile della Banca distributrice del tessuto che, certificandone la sicurezza, sarà evidentemente chiamato in causa in tutte le ipotesi in cui il tessuto non sia sicuro per deficienze in sede di prelievo, analisi, processazione o distribuzione. Gli standard di sicurezza del donatore prevedono:

1. tests sierologici al momento del prelievo che comprendano:

- Ac anti HIV I/II
- Ac anti HCV
- HBsAg

- Ac anti HBc
- Ac anti HBs
- Ac anti HTLV I/II
- Ac anti Ag Treponema
- Ac anti CMV IgG
- Ac anti CMV IgM
- Ac anti Ag Toxoplasma IgG
- Ac anti Ag Toxoplasma IgM

2. Il controllo batteriologico tramite emocultura per l'esclusione di:

- aerobi
- anaerobi
- micobatteri
- miceti

3. Disinfezione per almeno 72 ore ad una temperatura di 4°C in una soluzione di:

- vancomicina
- polimixina
- lincomicina
- ceftazidima

Lo stoccaggio prevede poi la sua conservazione a -80°C, conservabile per 5 anni.



## MATERIALI E METODI

In questo studio sperimentale multicentrico controllato, randomizzato e con valutazione degli outcomes in cieco, sono stati reclutati quattordici pazienti con creste edentule atrofiche rientranti nella classe IV di Cawood e Howell; la correzione dei difetti mascellari è avvenuta mediante utilizzo di osso autologo o osso omologo. La scelta dell'osso da utilizzare durante il trattamento chirurgico è stata randomizzata. Lo studio in questione ha coinvolto, come altri centri reclutatori, l'Università degli Studi di Modena, cattedra di Chirurgia maxillo-facciale e l'Università degli Studi di Bologna, cattedra di Chirurgia maxillo-facciale. La popolazione oggetto dello studio qui riportato riguarda i soli pazienti arruolati presso il nostro centro. I due gruppi oggetto dello studio sono: gruppo Trattamento - utilizzo di osso omologo (GT), gruppo Controllo - utilizzo di osso autologo (GC).

### CRITERI DI INCLUSIONE DEI PAZIENTI

#### **Criteri di inclusione:**

- Pazienti che necessitano di interventi di correzione di deficit ossei a carico dei mascellari o mandibolari con classe atrofica 4 di Cawood e Howell, al fine di effettuare un trattamento riabilitativo con impianti osteointegrati
- Età superiore a 18 anni
- Pazienti in grado di comprendere le condizioni dello studio e di partecipare per tutta la sua durata
- Pazienti con una situazione di buona salute, sia sistemica sia orale (assenza di stomatiti, lesioni cancerose o precancerose rilevate negli ultimi 5 anni, trattamenti odontoiatrici in corso al di fuori del presente studio, o parafunzioni rilevate);

- Pazienti con buon livello di igiene orale (valutato mediante il *full-mouth plaque score* (FMPS) e il *full-mouth bleeding score* (FMBS), valutati su sei punti per dente; i pazienti sono stati inclusi nello studio solo se, dopo la terapia parodontale causale, hanno ottenuto valori di FMPS e FMBS inferiori al 25%;
- Pazienti con negatività anamnestico-clinica per cardiopatie, malattie emorragiche ed ematologiche, nefropatie, malattie neoplastiche che controindicano in maniera assoluta l'intervento chirurgico e possono inficiare l'esito dell'intervento
- Donne di età inferiore ai 65 anni e uomini di età inferiore ai 70 anni
- Fumo: meno di 10 sigarette al giorno
- Donne non in gravidanza o in fase di allattamento
- Pazienti in assenza di infezione in corso al sito da ricostruire o infezione sistemica in corso

### **Criteri di esclusione**

- Paziente con diabete mellito non controllato o altre gravi malattie metaboliche;
- Pazienti con grave alterazioni della funzionalità epatica e renale.
- Paziente con positività sierologica per HIV, epatite A-B-C
- Pazienti con malattia neoplastica a carico del mascellare superiore;
- Pazienti sottoposti o che siano stati sottoposti negli ultimi 5 anni a chemioterapia, radioterapia o immunosoppressione.
- Pazienti con disturbi autoimmuni accertati, compresi l'artrite reumatoide, il lupus eritematoso sistemico, la sclerodermia, la sindrome di Sjögren e la dermatomiosite/polimiosite.
- Pazienti che avevano assunto, farmaci in grado di influenzare il metabolismo osseo, ed in genere la rigenerazione e riparazione tissutale (per es bifosfonati);
- Pazienti in terapia cronica con Steroidi o FANS (Farmaci Anti-infiammatori Non Steroidei)

- Pazienti allergici a Tetracicline

## COMPOSIZIONE DELLA POPOLAZIONE DELLO STUDIO

Dopo aver ottenuto l'autorizzazione del comitato etico locale e degli altri punti di arruolamento dello studio multicentrico in esame sono stati arruolati nella nostra sede 14 pazienti, tutti rientranti nella classe IV della classificazione di Cawood (Tabella 2) con un'età compresa tra i 23 e i 59 anni (46,5 anni di media). Ai pazienti è stata assegnata una sigla cifrata al fine di mantenere anonimo il paziente stesso e permettere una valutazione clinica, radiologica ed istologica in cieco da parte di valutatori estranei alle fasi di trattamento. Ognuno di questi pazienti è stato inserito casualmente o nel Gruppo Test (GT) composto di 7 pazienti, o nel gruppo Controllo (GC), anch'esso composto di 7 pazienti. GT ha ricevuto un innesto di osso omologo, mentre GC di osso autologo. Nel gruppo controllo in 5 pazienti la zona di prelievo a "blocco" è stata la sinfisi mentoniera, in 2 la branca montante della mandibola. Nel gruppo Test è stato utilizzato un emipiatto tibiale di provenienza omologa, processato e conservato presso la Banca cellulare e del Tessuto muscolo/scheletrico-Istituti Ortopedici Rizzoli di Bologna. Ogni singolo paziente è stato esaurientemente informato sulla possibilità di essere trattato mediante innesto con osso autologo o con osso omologo e ne ha compreso a pieno le differenze, la modalità dell'intervento nonché i rischi ad esso correlato.

PAZIENTE	ZONA EDENTULA	TIPO INNESTO
PR -01	2.4, 2.5	OMOLOGO
PR -02	2.4, 2.5	OMOLOGO
PR -03	2.5	OMOLOGO
PR -04	1.4, 1.5	AUTOLOGO
PR -05	1.4, 1.5	AUTOLOGO
PR -06	1.1,2.1,2.2	OMOLOGO
PR -07	1.1	AUTOLOGO
PR -08	2.6	AUTOLOGO
PR -09	4.4,4.5,4.6	OMOLOGO
PR -10	1.4, 1.5	AUTOLOGO
PR -11	4.3	AUTOLOGO
PR -12	4.4, 4.5	OMOLOGO
PR -13	3.5, 3.6	AUTOLOGO
PR -14	1.1, 2.4	OMOLOGO

Tabella 2: popolazione dello studio

## PROCEDURE PER L'INTERVENTO DI INNESTO

L'innesto omologo (Figure 2,3,4,5) è stato scongelato in soluzione antibiotica di Rifampicina (Rifadin, Lepetit Lainate, Italia) a 37°C prima dell'uso. Per ottenere un adattamento ottimale al sito atrofico, il pezzo è stato accuratamente preparato asportando completamente il periostio, selezionando la parte qualitativamente migliore e sagomandola con frese e pinza ossivora in modo che avesse il più intimo contatto possibile col sito ricevente. Dell'osso pervenuto è stata utilizzata sia la corticale sia la spongiosa, preoccupandosi di aumentarne la compattezza comprimendo leggermente il pezzo con un martelletto da osso.

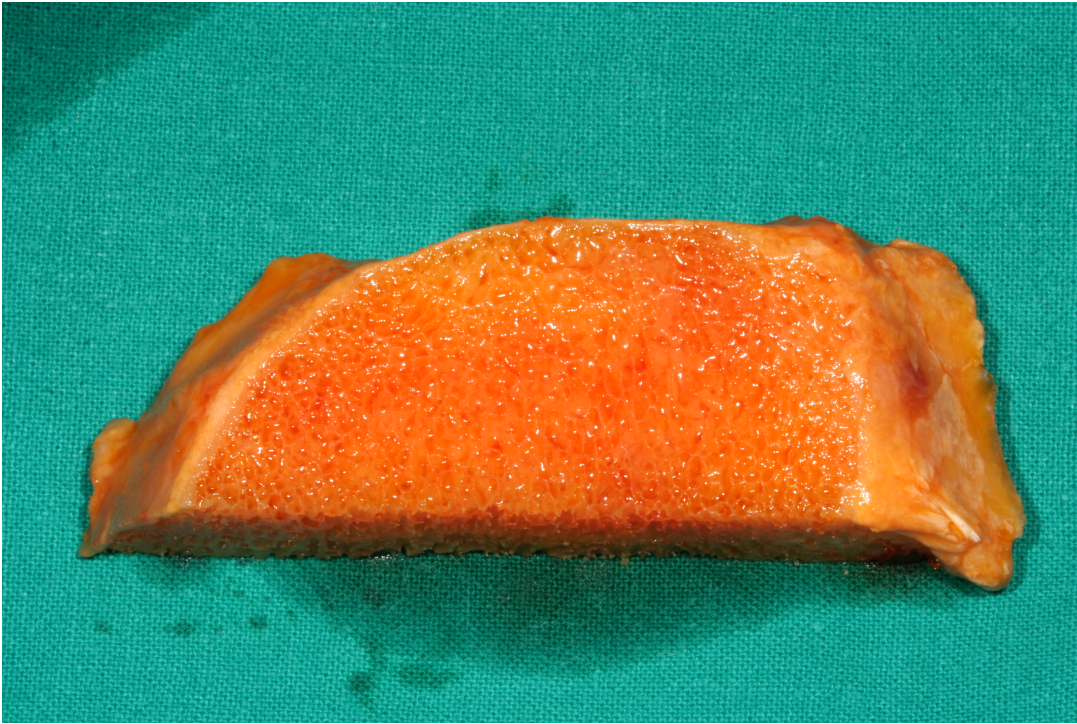


Figura 2: osso omologo (emipiatto tibiale) scongelato

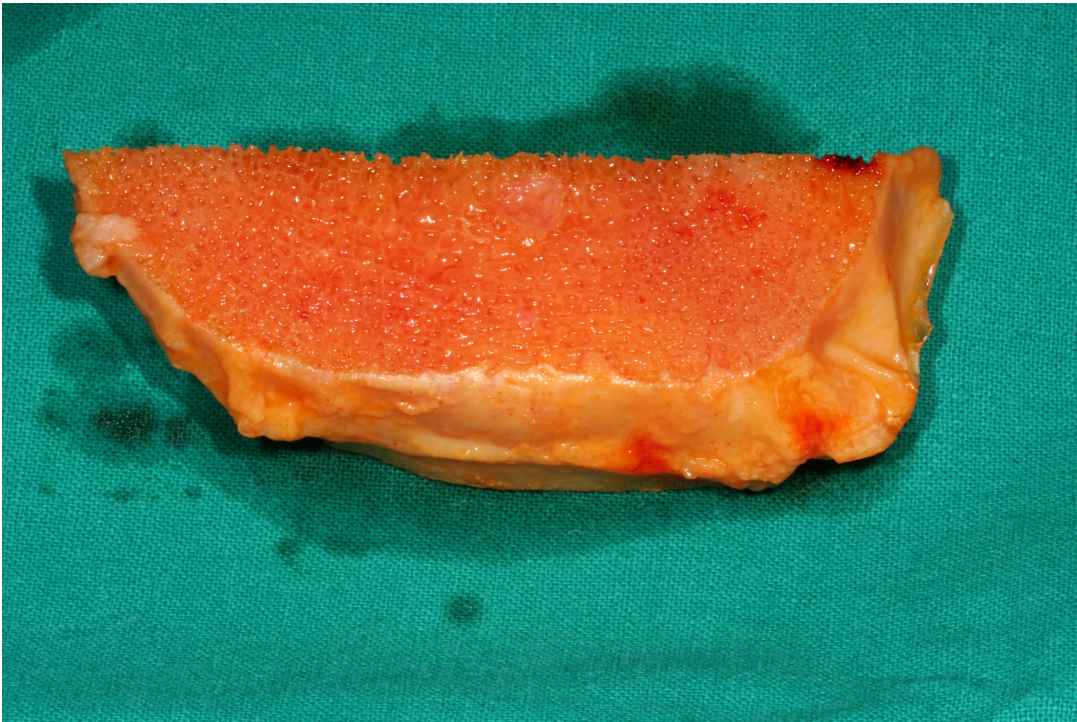


Figura 3: osso omologo (emipiatto tibiale) scongelato

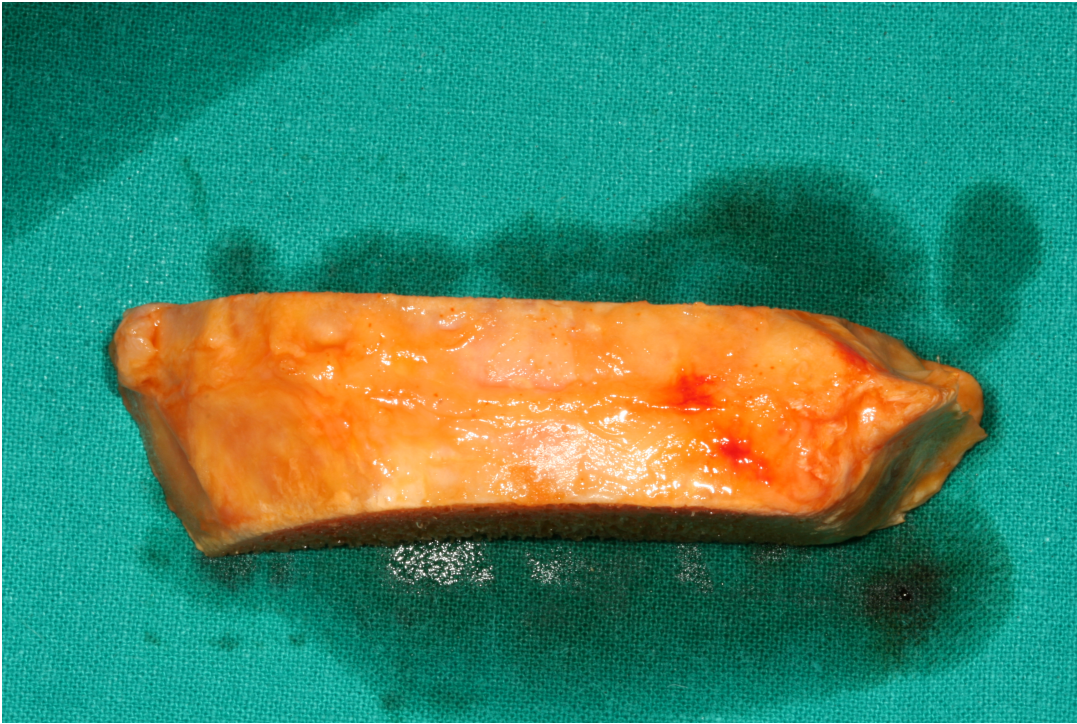


Figura 4: osso omologo (emipiatto tibiale) scongelato

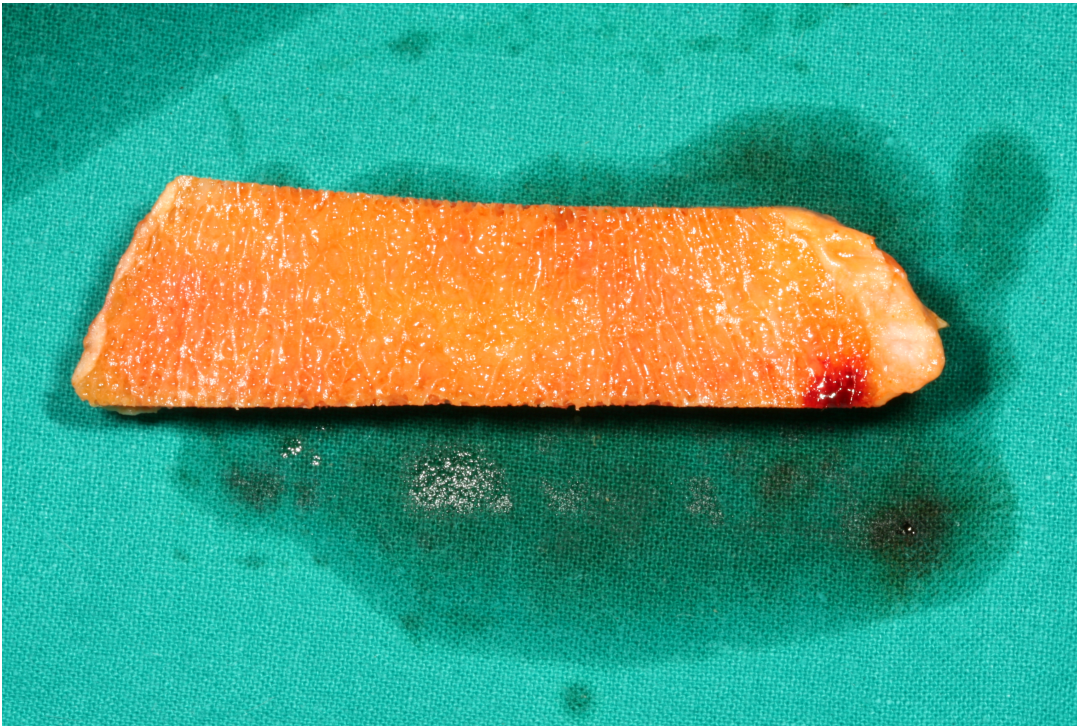


Figura 5: osso omologo (emipiatto tibiale) scongelato

Ai pazienti sono stati prescritti amoxicillina (Amoxicillina, Union Health S.r.L.), 2 gr un'ora prima della chirurgia, uno sciacquo con collutorio a base di clorexidina 0,2% per 1 minuto prima della chirurgia e una premedicazione con Diazepam (Valium, F.Hoffmann-La Roche SA) 1.2mL (12 gocce) sublinguale. Intorno al sito chirurgico e all'eventuale sito donatore è stata praticata l'anestesia locale per infiltrazione con soluzione di artocaina 4% + epinefrina 1:100.000 (Optocain, Molteni Dental S.p.A.). Al fine di ottenere la massima visibilità dell'area ricevente è stato disegnato un lembo mucoperiosteo trapezoidale costituito da: un'incisione orizzontale della mucosa cheratinizzata in cresta nelle zone edentule, un'incisione intrasulcurale in corrispondenza dei denti adiacenti e incisioni verticali mesiali e distali (Figura 6). Nel sito di prelievo dell'osso autologo, sinfisi mentoniera o branca montante della mandibola, è stato elevato un lembo mucoperiosteo di accesso alla corticale. L'osteotomia della corticale ossea nel sito donatore è stata effettuata con frese multilama montate su micromotore chirurgico e manipolo dritto (KaVo Italia S.r.L.). Il blocco osseo è stato poi asportato con scalpelli per osso (Figura 7). All'interno della lacuna ossea è stata inserita cellulosa ossidata (Tabotamp, Johnson&Johnson Medical S.p.A.) (Figura 8) ed il lembo è stato suturato ermeticamente con un filo Vicryl 3-0 (Johnson & Johnson International, Belgio).

L'innesto osseo, sia autologo (Figura 9) sia omologo, correttamente sagomato con fresa e pinza ossivore (Figure 10,11,12,13,14,15) è stato posizionato in modo da riempire al meglio la zona atrofica e fissato con viti per innesto Martin (KLS Martin Group) o CiZeta (CiZeta Surgical, Italia) di diametro compreso tra 1 mm e 1,5 mm e lunghezza compresa tra 7 mm e 18 mm (Figure 16 e 17). Frammenti ottenuti dall'asportazione e preparazione dell'innesto, sono stati utilizzati per eseguire il completo riempimento dell'area atrofica interessata (Figura 18). Il tutto è stato coperto con una membrana riassorbibile OsseoGuard 20X30mm (Biomet3i, inc, Indiana, USA), in quanto dalla letteratura vi è una

debole evidenza che gli innesti a blocco ricoperti da una membrana riassorbibile abbiano un outcome migliore (55) (Figura 19).

Il lembo è stato suturato senza tensione utilizzando punti staccati in Vicryl 3-0; per conferire maggiore ermeticità, è stata poi eseguita un'ulteriore sutura continua con un filo di Prolene 5-0 (Johnson & Johnson International, Belgio) (Figura 20). Per suturare le papille interdentali è stato utilizzato Monocryl 4-0 (Johnson & Johnson International, Belgio)

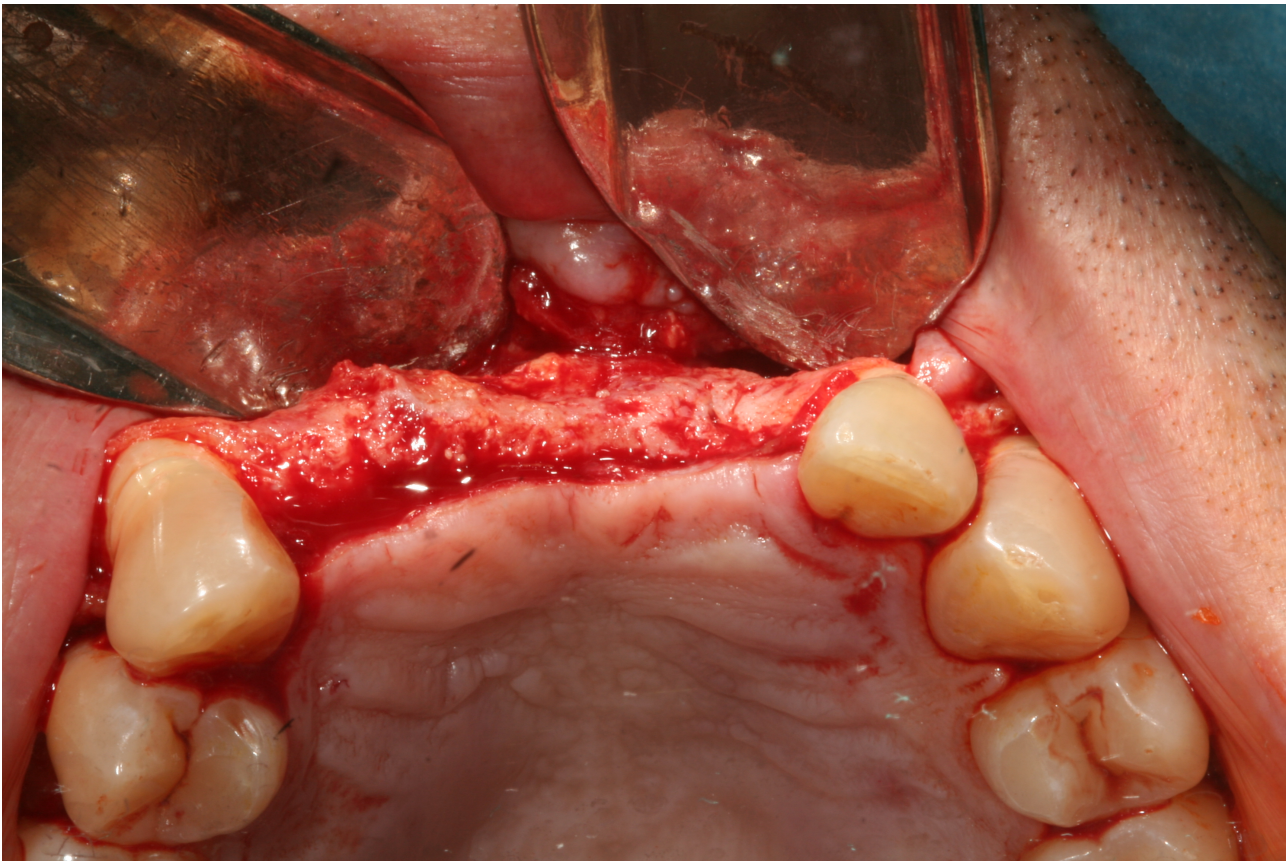


Figura 6: incisione paracrestale del lembo mucoperiosteale nel sito ricevente

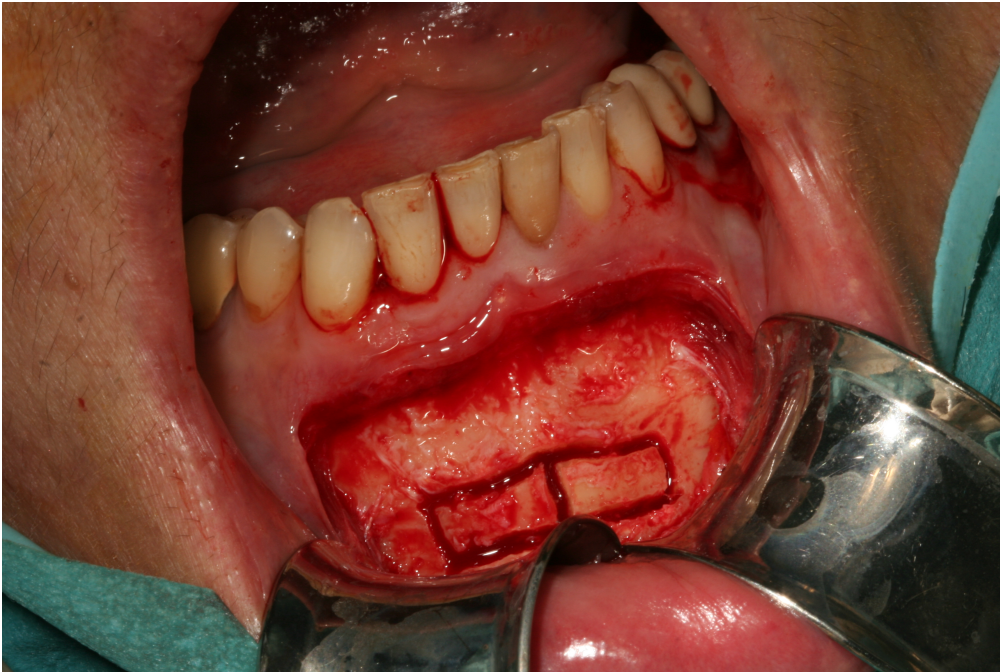


Figura 7: Prelievo osseo dalla sinfisi mentoniera



Figura 8: prelievo di osso autologo dalla sinfisi mentoniera riempita con cellulosa ossidata

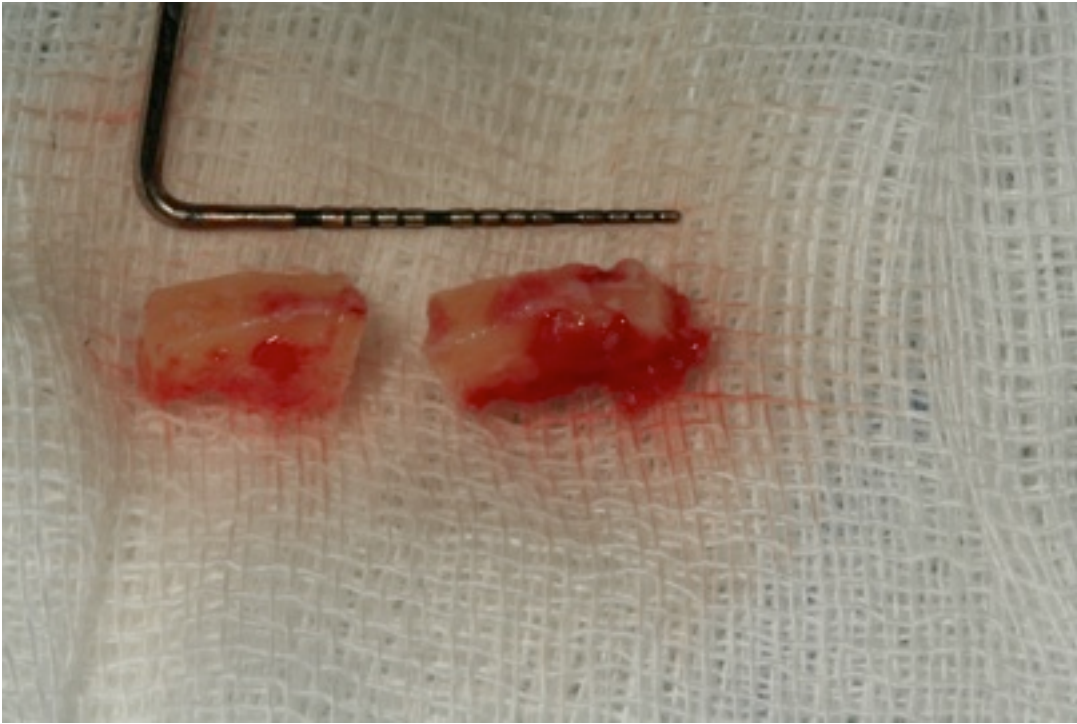


Figura 9: Osso autologo prelevato dalla sinfisi mentoniera



Figura 10: Sagomatura osso omologo con pinze ossivore



Figura 11: Osso omologo sagomato



Figura 12: Osso omologo sagomato

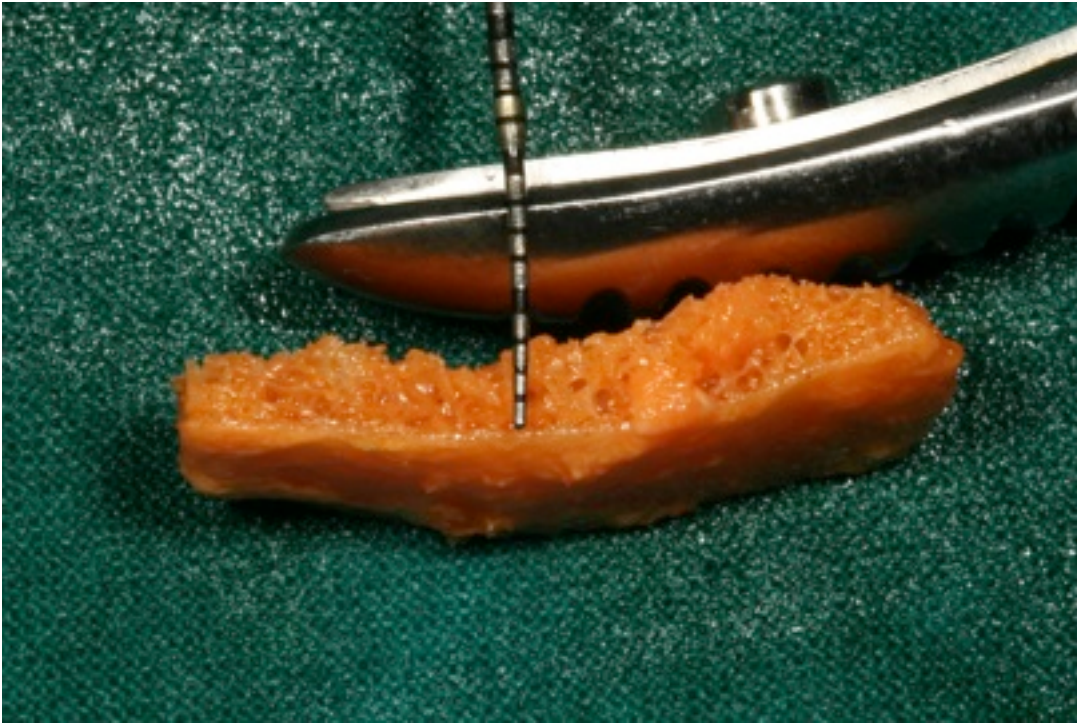


Figura 13: Osso omologo sagomato

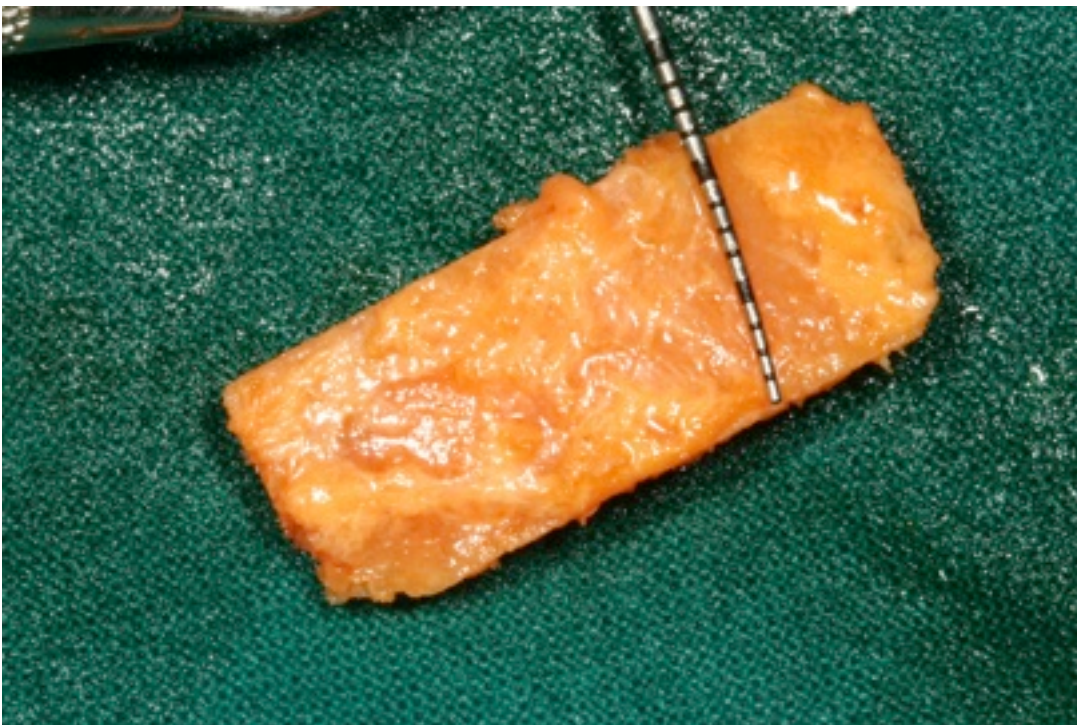


Figura 14: Osso omologo sagomato

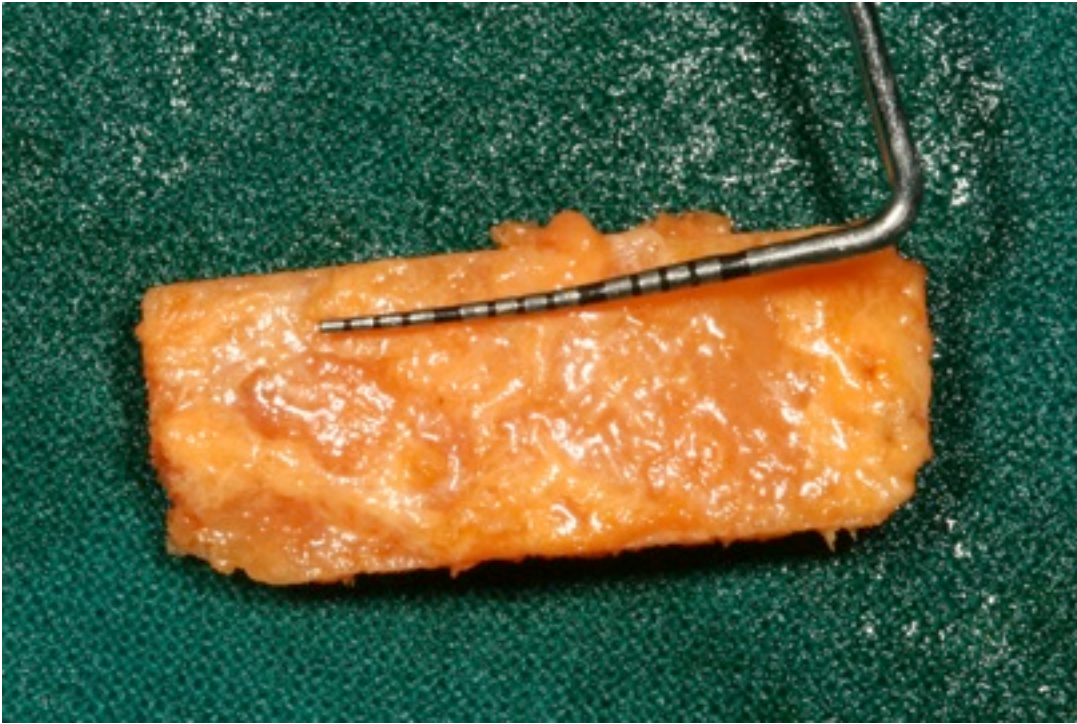


Figura 15: Osso omologo sagomato

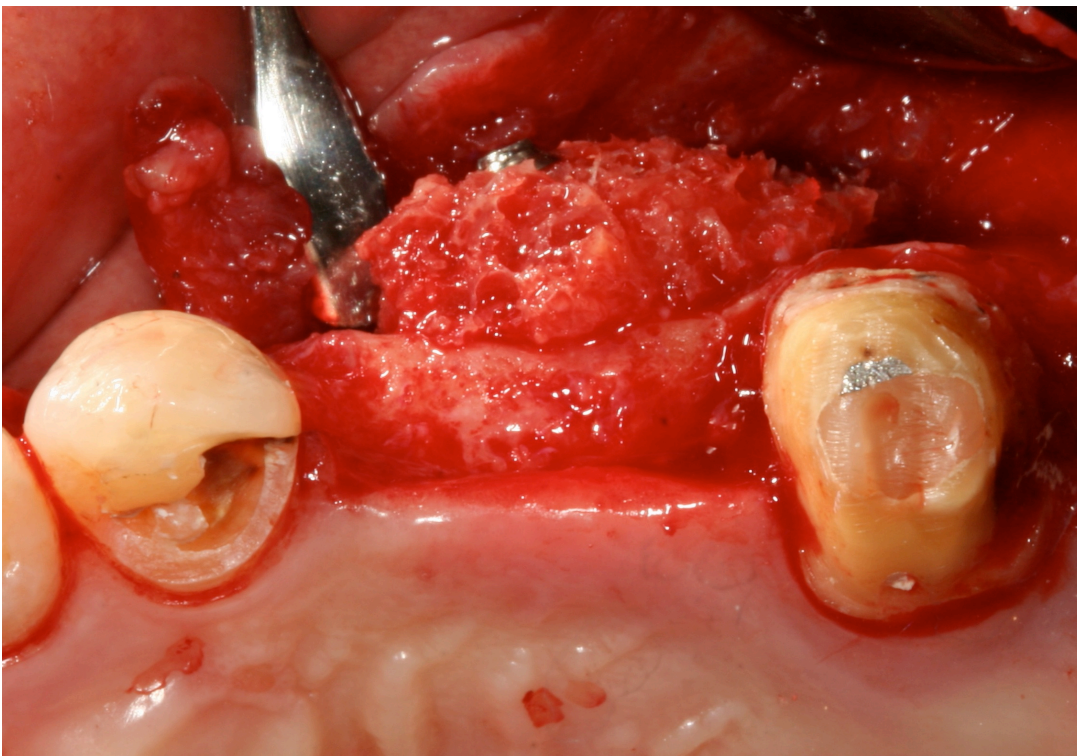


Figura 16: innesto omologo sagomato fissato con viti di osteosintesi al sito ricevente



Figura 17: innesto autologo sagomato fissato con viti di osteosintesi al sito ricevente

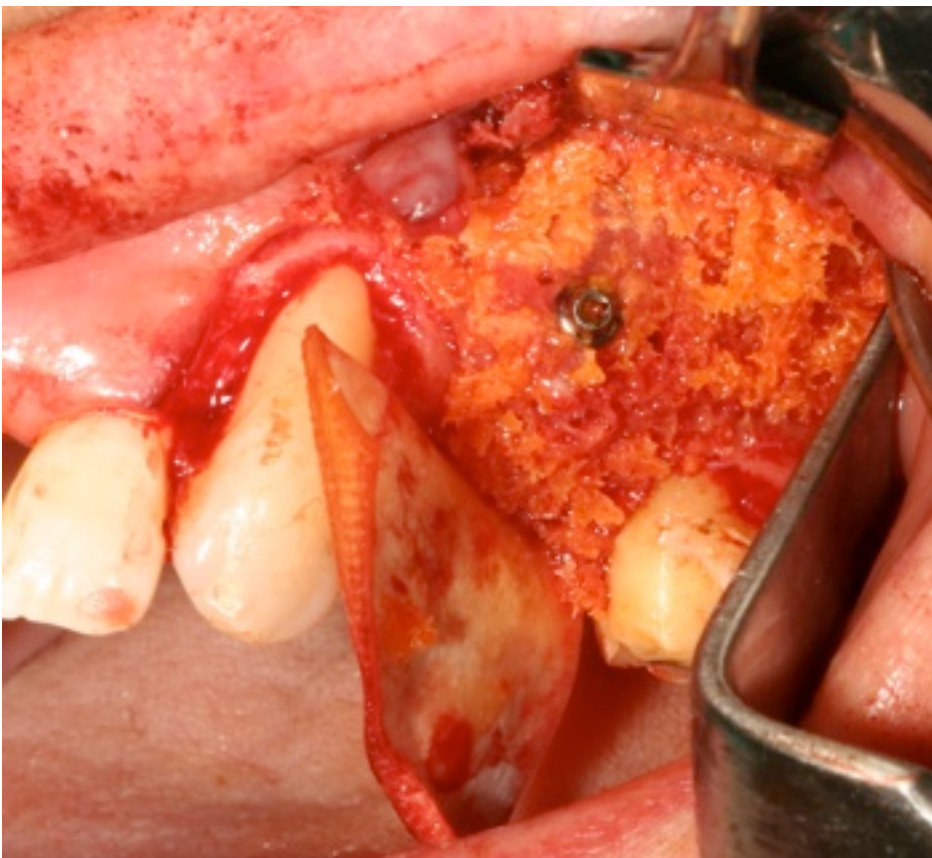


Figura 18: Bone chips di osso omologo utilizzati per eseguire il riempimento dell'area



Figura 19: innesto omologo ricoperto con membrana riassorbibile

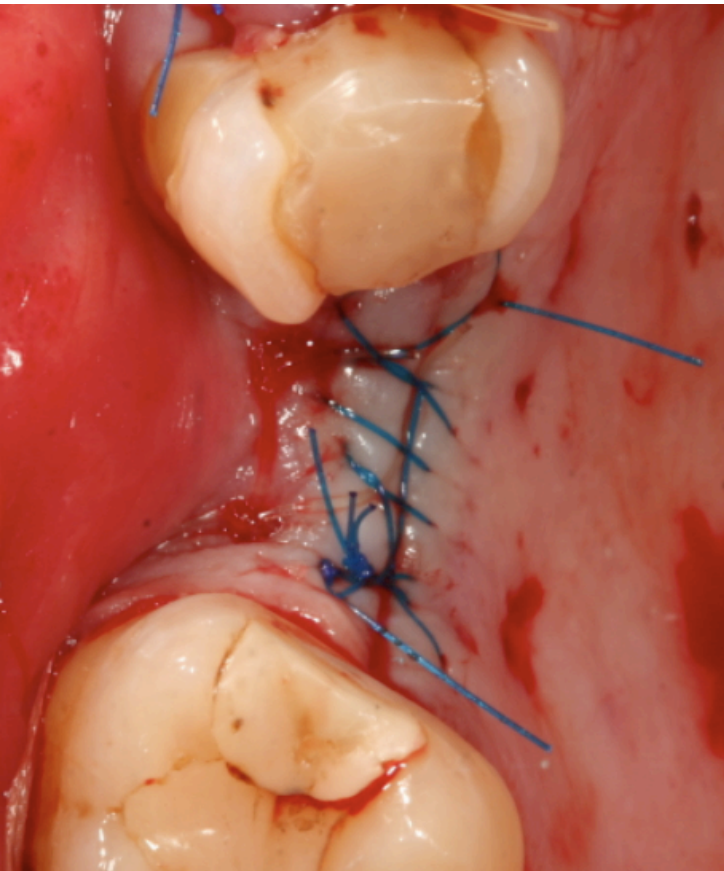


Figura 20: sutura Prolene 5-0

Per alleviare il dolore post-operatorio, subito dopo l'intervento sono stati somministrati al paziente 8mg di desametasone fosfato (Desametasone fosfato, Hospira Italia S.r.L.) intramuscolo e 10 gocce di Ketorolac (Tora-dol, Recordati S.p.A.) sublinguale. Sono stati prescritti antibiotici per via orale (amoxicillina 1g ogni 8 ore per 10 giorni) e sciacqui con clorexidina 0,2% per 1 minuto 3 volte al giorno; sono state consigliate una dieta morbida e fredda, l'astensione da sforzo fisico intenso nei 3 giorni successivi l'intervento e l'eventuale assunzione di FANS al bisogno, le suture sono state rimosse dopo 7 giorni. I pazienti sono stati sottoposti a visite di controllo settimanali per il primo mese e mensili dal secondo mese al sesto. A 180 giorni dall'intervento di innesto sono stati posizionati gli impianti. È stato elevato un lembo a tutto spessore con incisione lineare in cresta e, utilizzando una fresa trephine dal diametro interno di 2.5 mm, sono state ricavate biopsie ossee prelevate parallelamente (axial) o perpendicolarmente (core) all'asse d'inserzione impiantare in base alle dimensioni della zona coinvolta (Figura 21).

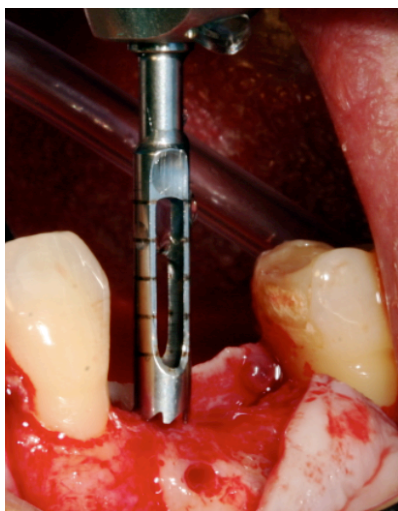


Figura 21: prelievo osseo axial per biopsia con fresa trephine

Il sito implantare è stato poi preparato con frese di diametro crescente sotto abbondante irrigazione di soluzione fisiologica, secondo le istruzioni della casa produttrice (Biomet3i, Indiana, USA). Sono stati posizionati impianti cilindrici (Nanotite Certain, Biomet3i,

Indiana, USA) di diametro e lunghezza adeguati (Figure 22, 23) ed è stata effettuata una sutura ermetica del lembo senza tensione che permettesse una guarigione sommersa degli impianti stessi

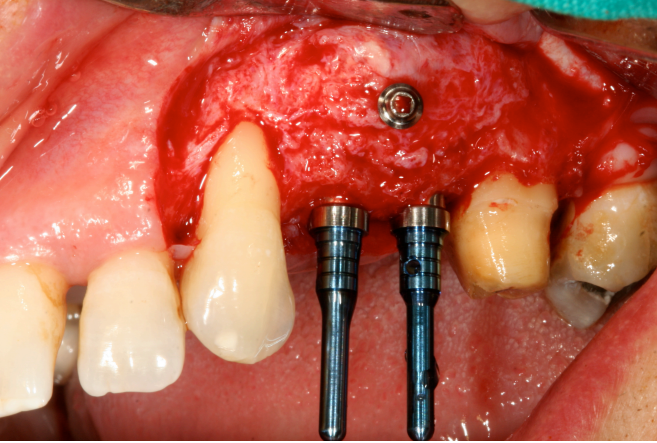


Figura 22: impianti inseriti



Figura 23: impianti inseriti

Nessun paziente arruolato nello studio ha portato protesi provvisorie rimovibili o fisse che avessero appoggio mucoso durante l'attecchimento dell'innesto e durante il periodo di guarigione sommersa degli impianti. In accordo con una recente revisione Cochrane che afferma sia meglio procedere ad una guarigione sommersa degli impianti in caso di rigenerazione ossea (56), i siti implantari sono stati riaperti a 6 mesi dal loro inserimento previa valutazione clinico-radiologica. In particolare, in relazione ai diversi impianti, è stata valutata: l'assenza di motivi di discomfort (dolore, sensazione da corpo estraneo, disestesia), l'assenza di uno stato infettivo perimplantare, l'assenza di mobilità dell'impianto (valutabile anche durante lo svitamento della vite chirurgica di chiusura), l'assenza di una continuativa radiolucenza periimplantare. Il successo implantologico in fase pre-protetica è stato decretato dall'accertamento dei succitati criteri. In seguito il paziente ha proseguito la terapia finalizzata alla riabilitazione protesica (non oggetto del presente studio). La marcatura dell'osso neoformato ai fini della successiva istologia, eseguita su osso prelevato, come sopra descritto, al momento dell'inserimento degli impianti, è stata effettuata somministrando 100 mg di Doxiciolina (Bassado, Pfizer Italia S.r.l.) due volte al giorno per quattro giorni. Tale farmaco, appartenente alla famiglia delle tetracicline, ha una particolare affinità per la matrice ossea depositata e mineralizzata da poco; è stato quindi possibile, sfruttando questa caratteristica, effettuare una marcatura dell'osso neoformato, utile ai fini dell'analisi istologica da farsi al momento dell'inserimento degli impianti.

## ESAMI RADIOLOGICI

I pazienti, sia del gruppo test, che del gruppo controllo, sono stati sottoposti ad esame radiografico di Tomografia Computerizzata prima dell' intervento di innesto, una settimana dopo (per calcolare il volume di osso innestato), quindici giorni prima dell'inserimento implantare (a sei mesi dall'innesto), e 6 mesi dopo di esso, appena prima della scopertura degli impianti. Tutte le TC sono state eseguite dallo stesso operatore e dallo stesso macchinario (TC SIEMENS CT4350) con l'ausilio di un template radiologico in acrilato costituito da una mascherina in resina acrilica corrispondente all'arcata con atrofia con, al suo interno, tre punti di riferimento circolari di diametro 2 mm in guttaperca per consentire il riallineamento tra le varie TC e la visualizzazione della zona atrofica anche dopo l'innesto osseo.

Tale mascherina presentava due supporti circolari extraorali con diametro 12 cm e spessore 0.5 cm fissati perpendicolarmente uno all'altro, su ognuno dei quali è stata bloccata una livella a bolla così da poter posizionare le arcate dentarie del paziente in modo standardizzato ad ogni esame radiografico (Figura 24).



Figura 24: dima radiologica

La dima è stata accuratamente provata e si è provveduto ad assicurare un corretto riposizionamento con l'arcata antagonista realizzando un'ulteriore mascherina in silicone. In questo modo, durante ogni esame radiografico, il paziente ha mantenuto le arcate sempre nella stessa posizione, ottenendo acquisizioni TC standardizzate. I dati ottenuti dagli esami radiologici sono stati poi valutati da un operatore estraneo all'equipe chirurgica tramite Osirix Imaging Software, settando manualmente la scala dei grigi (WL/WW) tra 0 e 2000 così da poter visualizzare al meglio i tessuti duri, senza che ciò potesse inficiare i valori di densità. Le immagini sono state visualizzate inizialmente in 2D con tagli trasversali mantenenti l'inclinazione con cui è stato fatto l'esame, e per ogni taglio progressivo che coinvolge l'innesto è stata selezionata manualmente la ROI (Region Of Interest). Al termine dell'impostazione delle ROI, l'innesto è stato ricostruito in 3D tramite l'unione di tutte le ROI in 2D selezionate così da poterne misurare il volume, la densità media, la densità massima e la deviazione standard (Figure 25,26,27,28).

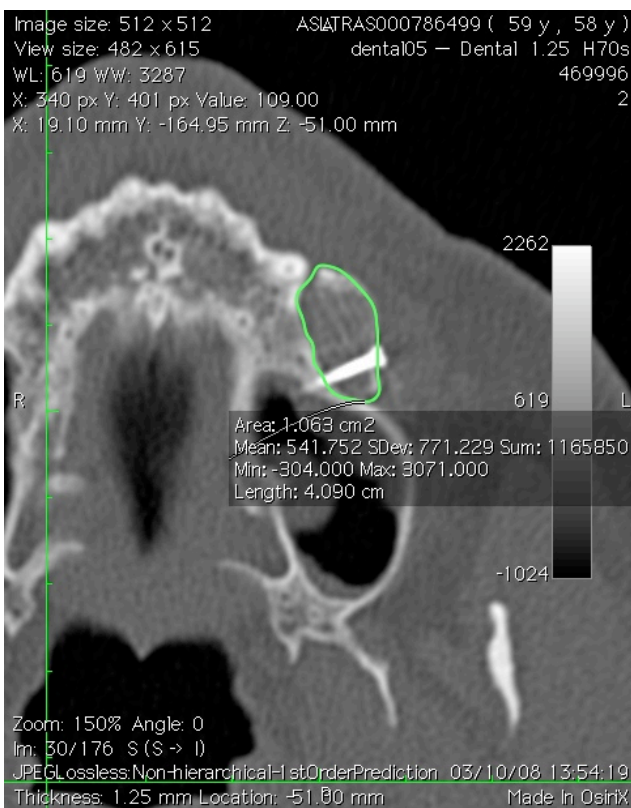


Figura 25: Determinazione in 2D della Region of interest (ROI)

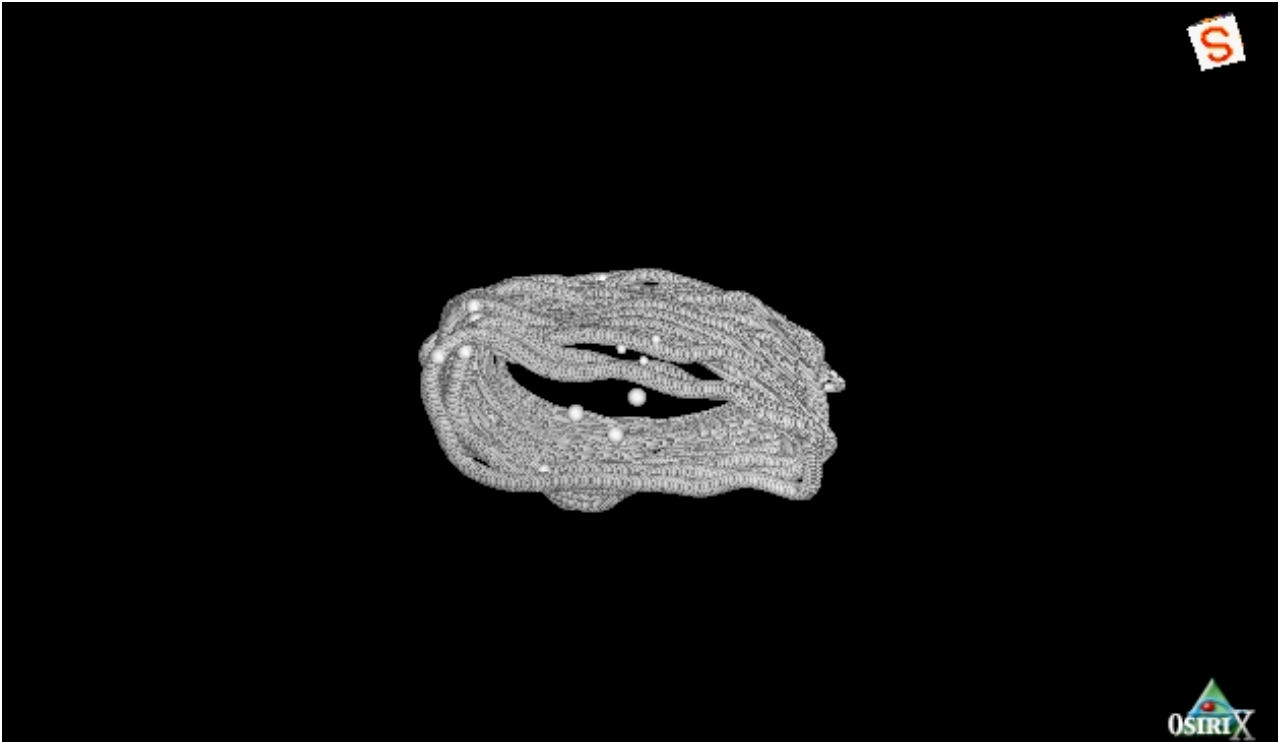


Figura 26: Visione delle ROI sovrapposte sui tagli trasversali presi in esame

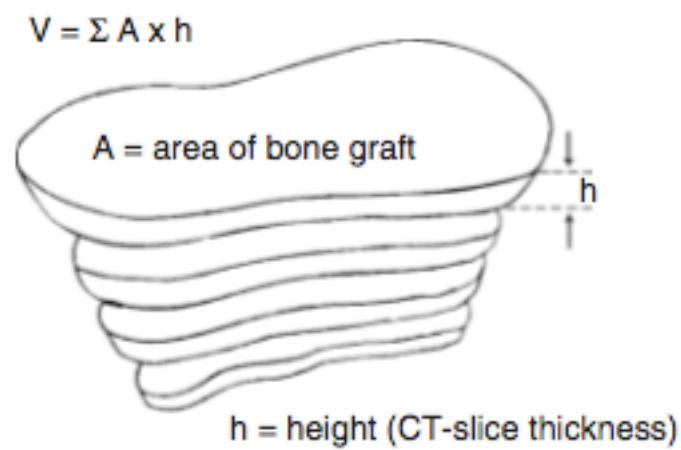


Figura 27: Formula con cui il software calcola il volume dell'innesto

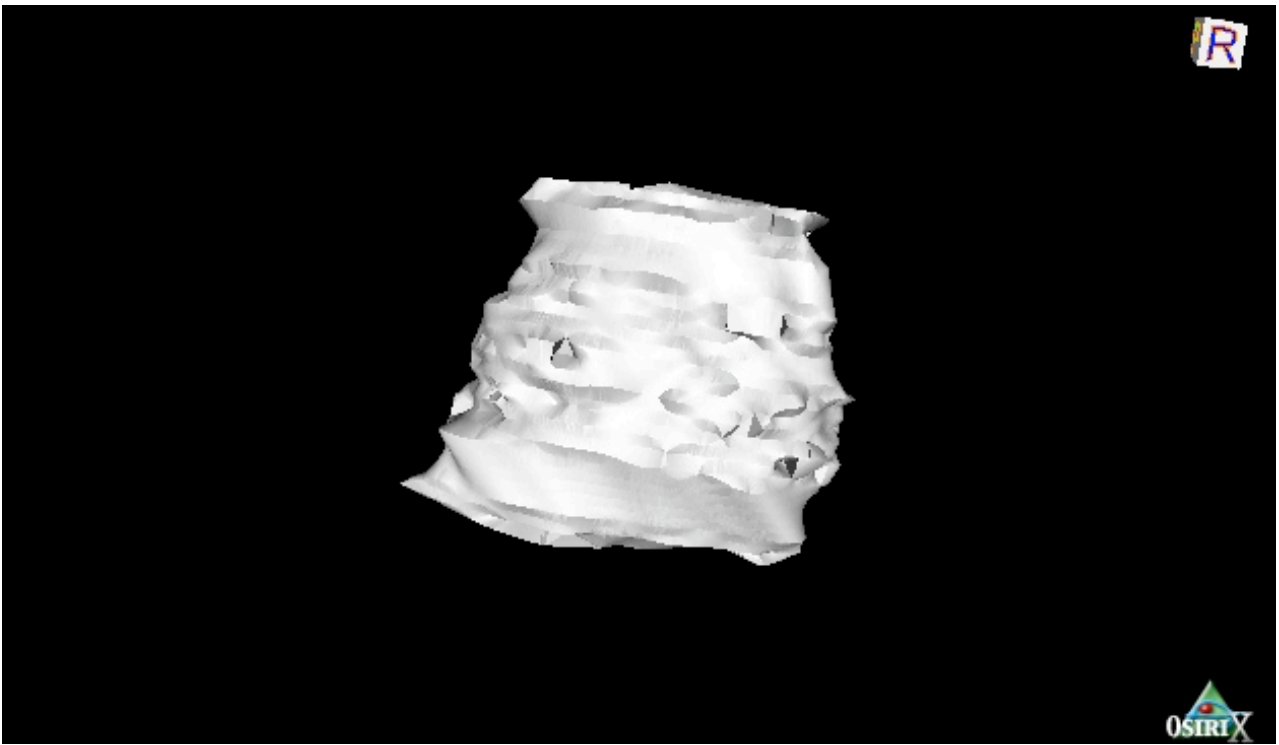


Figura 28: Volume dell'innesto ricostruito tramite Osirix

## ESAMI ISTOLOGICI

Le biopsie opportunamente fissate in paraformaldeide 4% in tampone fosfato 0.1 M pH 7.2 sono state incluse in metilmetacrilato. Sezioni trasversali sottili ( $5 \mu\text{m}$ ) e una sezione spessa ( $100 \mu\text{m}$ ) sono state ottenute in ciascuna biopsia in ciascuno dei tre livelli esterno, centrale ed interno. Le sezioni spesse, dopo pulitura con carte abrasive e lucidatura con allumina, sono state microradiografate su pellicola ad alta risoluzione, analizzate e fotografate col microscopio a fluorescenza e infine colorate con blu di toluidina per l'evidenziazione dell'osso neoformato.

Le sezioni sottili sono state colorate (blu di toluidina, tricromica di Gomori, cresil violetto) per la valutazione delle componenti ossee contenenti o meno osteociti vitali. E' stata inoltre allestita una particolare colorazione per l'evidenziazione dell'osso innestato e dell'osso neoformato. Sezioni sono state trattate con la metodica per la TRAP (telomeric repeat amplification protocol) per l'evidenziazione dell'attività erosiva in atto al momento dell'inserimento degli impianti.

I parametri istologici sottoposti ad indagine sono stati:

- Ammontare di osso presente (TBV) - %
- Percentuale di osso innestato (POI) - %
- Percentuale di osso vitale (POV) - %
- Rapporto di apposizione minerale (MAR) -  $\mu\text{m}/\text{day}$
- Osso neodeposto dopo 5 mesi dall'innesto (ON5) - %
- Percentuale delle superfici in erosione (RS/BS) - %

## RISULTATI

In ogni paziente sono stati effettuati controlli clinici a cadenza settimanale per il primo mese di follow-up e mensile successivamente. Sono state valutate, avvalendosi anche di fotografie intraorali, le condizioni dei tessuti molli, l'igiene orale, la presenza di suppurazione, deiscenza, edema o ematoma. In tutti i pazienti, sia del gruppo test, che del gruppo controllo è stata riscontrata una buona guarigione della ferita con assenza delle complicanze sopra citate e non è stato riferito particolare dolore se non quello strettamente legato al decorso post-operatorio. In 1 paziente del gruppo Test (PR-03) l'innesto è andato però completamente riassorbito.

### DATI RADIOLOGICI

Dalle TC effettuate, una subito dopo l'intervento chirurgico ( $t_0$ ) e l'altra a distanza di sei mesi ( $t_6$ ), si è valutato il volume dell'innesto, così da poterne dedurre il grado di riassorbimento. Per quanto riguarda i pazienti del gruppo test, cioè quelli che hanno ricevuto un innesto di osso omologo, la differenza di volume dell'innesto ( $t_0-t_6$ ) è stata in media di  $0,73434 \text{ cm}^3$  mentre nel gruppo controllo, cioè quelli che hanno ricevuto un innesto di osso autologo, il volume medio di osso riassorbito è stato di  $0,07866 \text{ cm}^3$ .

Sempre dall'analisi radiografica, è stata valutata per ogni paziente la differenza di densità ossea dell'innesto tra  $t_6$  e  $t_0$  e ne è stata ricavata una media. Nei pazienti del gruppo test si è ottenuto un valore medio di aumento di densità pari a  $148,1219 \text{ HU}$ , mentre per il gruppo controllo tale valore medio è pari a  $-45 \text{ HU}$ . (tabelle 3 e 4, grafici 1,2,3,4)

paziente	data tc	Volume	Media densità ossea	Densità ossea minima	Densità ossea massima	Deviazione Standard
pr-01	t0	1,7804	293,4091	-1024	3071	329,1218
pr-01	t6	0,6073	340,2426	-230	3071	267,5324
pr-02	t0	1,6869	398,4734	-650	3071	479,4314
pr-02	t6	0,942	470,7099	-775	3071	533,2745
pr-03	t0	0,5233	430,8589	-628	3071	504,2234
pr-03	t6	0	x	x	x	x
pr-06	t0	1,6234	371,4835	-594	3071	473,1428
pr-06	t6	0,5154	675,6765	-739	3071	705,8826
pr-09	t0	0,5633	351,0644	-461	3071	236,7431
pr-09	t6	0,4409	520,1224	-305	3071	442,1707

Tabella 3: Risultati radiologici gruppo Test.

paziente	data tc	Volume	Media densità ossea	Densità ossea minima	Densità ossea massima	Deviazione Standard
pr-04	t0	0,513	797,1398	-1024	3071	711,3094
pr-04	t6	0,5027	963,58	-51	3071	564,082
pr-05	t0	0,1166	1180,7233	-51	3071	753,7062
pr-05	t6	0,0199	1326,4788	196	3071	655,861
pr-08	t0	0,1256	1370,623	47	3071	729,9493
pr-08	t6	0,0725	1298,1243	-76	3071	749,4998
pr-07	t0	0,1564	1249,4437	102	3071	473,9487
pr-07	t6	0,0129	792,4639	209	1639	312,0495
pr-11	t0	0,1513	1279,3571	85	3071	468,4772
pr-11	t6	0,0802	1174,0723	120	3071	394,0438
pr-10	t0	0,1166	1155,9834	-18	3071	503,3739
pr-10	t6	0,098	1211,0852	51	3071	416,7894

Tabella 4: Risultati radiologici Gruppo Controllo

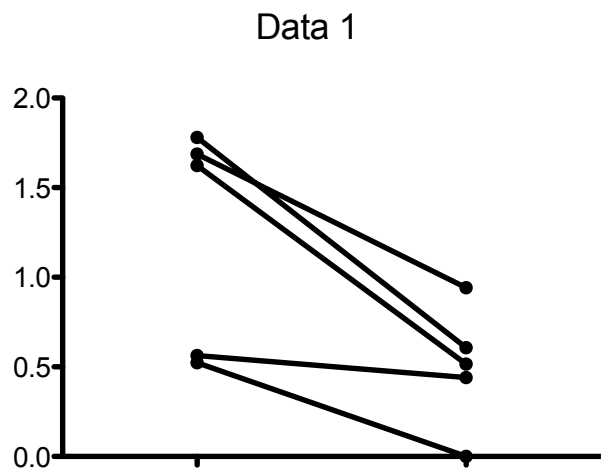


Grafico 1: Volume innesto a T0 ed a T6 gruppo Test

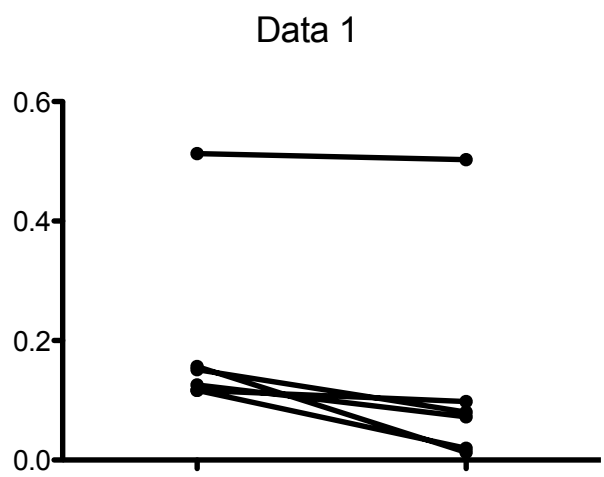


Grafico 2: Volume innesto a T0 e T6 del gruppo Controllo

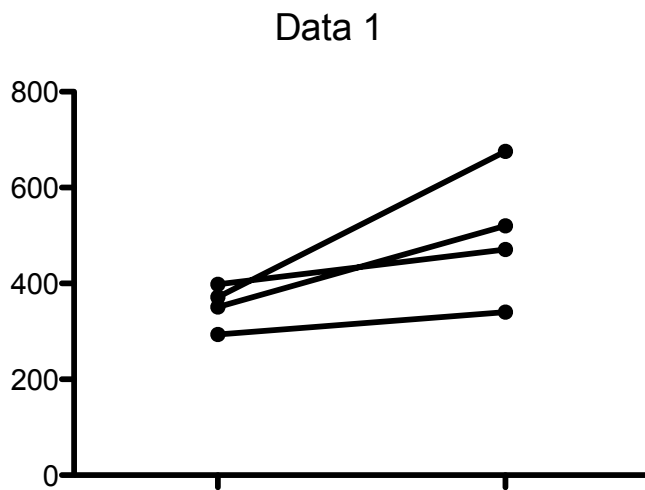


Grafico 3: Densità ossea a T0 e T6 Gruppo Test

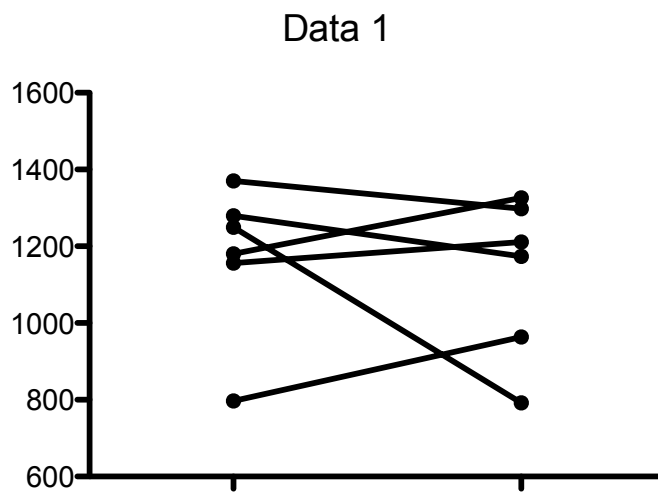


Grafico 4: Densità ossea a T0 e T6 Gruppo Controllo

Le variazioni relative hanno mostrato per l'osso omologo un riassorbimento del 61,7% e un aumento di densità del 41,8%, mentre nell'osso autologo il riassorbimento è stato del 47% e la densità è diminuita del 2%.

### STATISTICA

Per quanto riguarda la variazione volumetrica degli innesti tra t0 e t6 sia il gruppo controllo che il gruppo test hanno passato il test di normalità, si è quindi proceduto all'esecuzione di T test con risultati non significativi ( $p=0,453$ ). Significativo ( $p=0,027$ ) è stato il risultato riguardante l'aumento di densità ossea nell'osso omologo (GC) a t6 rispetto all'osso autologo (GC).

### IMPIANTI

Al momento attuale a dieci pazienti (4 del gruppo test, 6 del gruppo controllo) sono stati inseriti un totale di 19 impianti osteointegrati di forma cilindrica (Nanotite Certain, Biomet3i, Indiana, USA). Di questi 10 sono stati inseriti nei pazienti test, 9 nei pazienti controllo (Tabelle 5 e 6).

PAZIENTE	SEDE EDENTULIA	N° IMPIANTI INSERITI
PR 01	2.4, 2.5	2
PR 02	2.4, 2.5	2
PR 06	1.1, 2.1, 2.2	3
PR 09	4.4, 4.5, 4.6	3

Tabella 5: numero di impianti inseriti e sede GRUPPO TEST.

PAZIENTE	SEDE EDENTULIA	N° IMPIANTI INSERITI
PR 04	1.4, 1.5	2
PR 05	1.4, 1.5	2
PR 07	1.1	1

<b>PAZIENTE</b>	<b>SEDE EDENTULIA</b>	<b>N° IMPIANTI INSERITI</b>
PR 08	2. 6	1
PR 10	1.4, 1.5	2
PR 11	4. 3	1

Tabella 6: numero di impianti inseriti e sede GRUPPO CONTROLLO.

Ad oggi di questi impianti, sono arrivati alla scopertura, dopo 6 mesi dall'inserimento, 7 impianti nel gruppo test e 4 nel gruppo controllo. Tutti gli 11 impianti finora scoperti soddisfacevano i criteri di successo del nostro studio: l'assenza di motivi di discomfort (dolore, sensazione da corpo estraneo, disestesia), l'assenza di uno stato infettivo perimplantare, l'assenza di mobilità dell'impianto, l'assenza di una continuativa radiolucenza periimplantare. Tre impianti del gruppo Test (PR-06) avevano svariate spire vestibolari esposte al momento della scopertura, si è quindi proceduto con la rigenerazione ossea guidata tramite BioSS (Geistlich biomaterials), uno xenoinnesto di origine bovina, ricoperto da una membrana riassorbibile (biogide, Geistlich biomaterials). Ad oggi gli impianti non sono ancora stati sottoposti a carico protesico.

## RISULTATI ISTOLOGICI

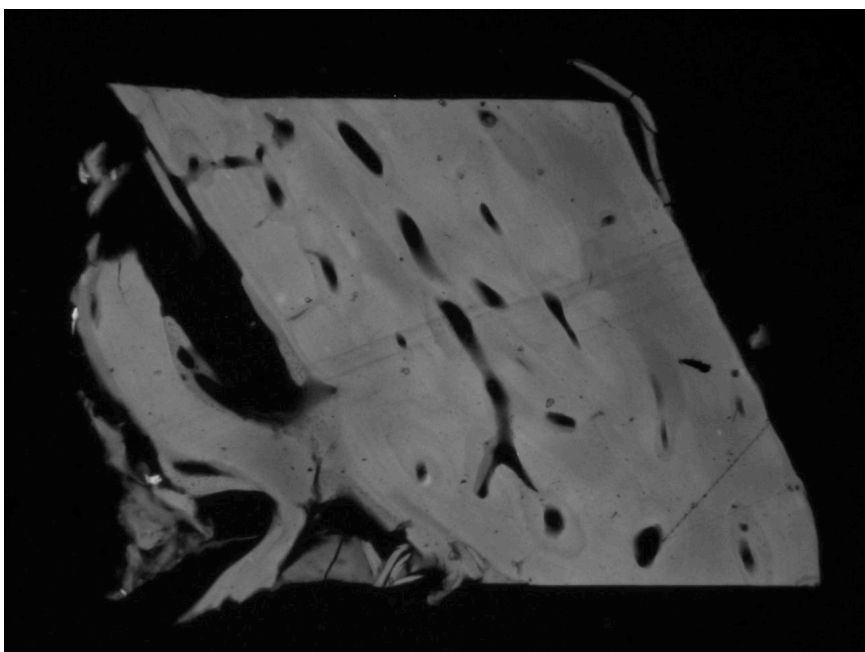


Figura 29: MicroRx di biopsia ossea di innesto autologo (PR-04) a 6 mesi dall'intervento

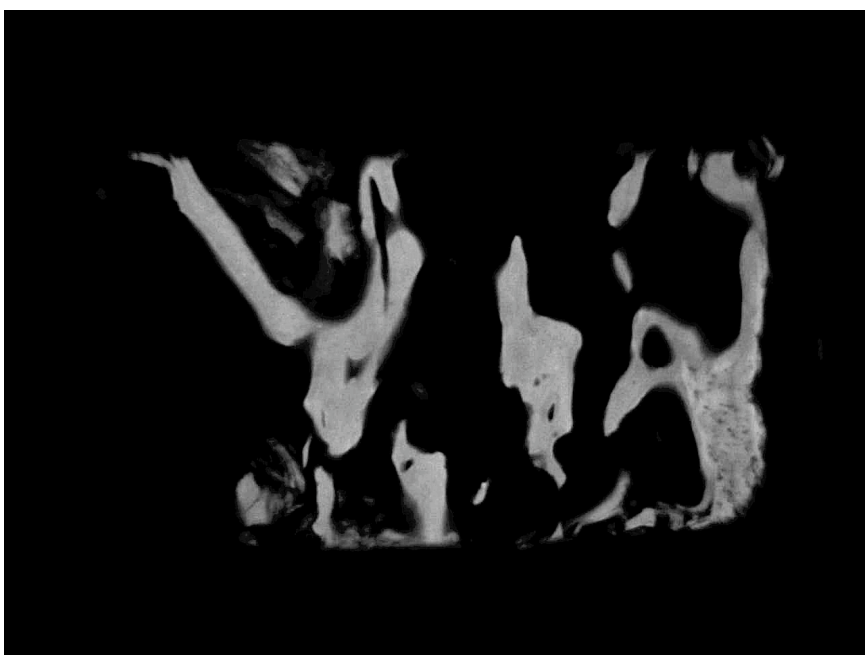


Figura 30: MicroRx di biopsia ossea di innesto omologo (PR-02) a 6 mesi dall'intervento

Queste 2 microradiografie ( Figura 30 e 31) degli innesti sono rappresentative della differenza di qualità ossea tra i 2 tipi di innesti utilizzati nel presente studio. L'osso autologo (in questo caso proveniente dalla sinfisi mentoniera) si presenta molto più corticale di quanto non sia l'alloinnesto. Questo spiega, in parte, anche la differente variazione di volume a 6 mesi: infatti più l'osso è corticale, minore è il suo turn-over e quindi maggiore è il tempo che richiede la sua sostituzione con osso neoformato e inoltre più è corticale, maggiore è la sua stabilità volumetrica nel tempo (29-33). Al contrario un osso trabecolare presenta un rapporto superficie/volume sostanzialmente maggiore rispetto all'osso corticale, con una maggior quantità di superficie ossea che partecipa ai processi riassorbitivi e osteoformativi e quindi un turn-over decisamente più veloce, il che è anche responsabile del termine "osso metabolico" che viene talora utilizzato in riferimento all'osso spugnoso.

Nella parte destra della microrx del campione di osso omologo da notare ampie lacune di riassorbimento sulla corticale esterna, da imputarsi, molto probabilmente, all'età avanzata del donatore, come si evidenzia anche dalla microrx eseguita sull'osso omologo prima dell'innesto e privo di una corticale visibile (Figura 32).

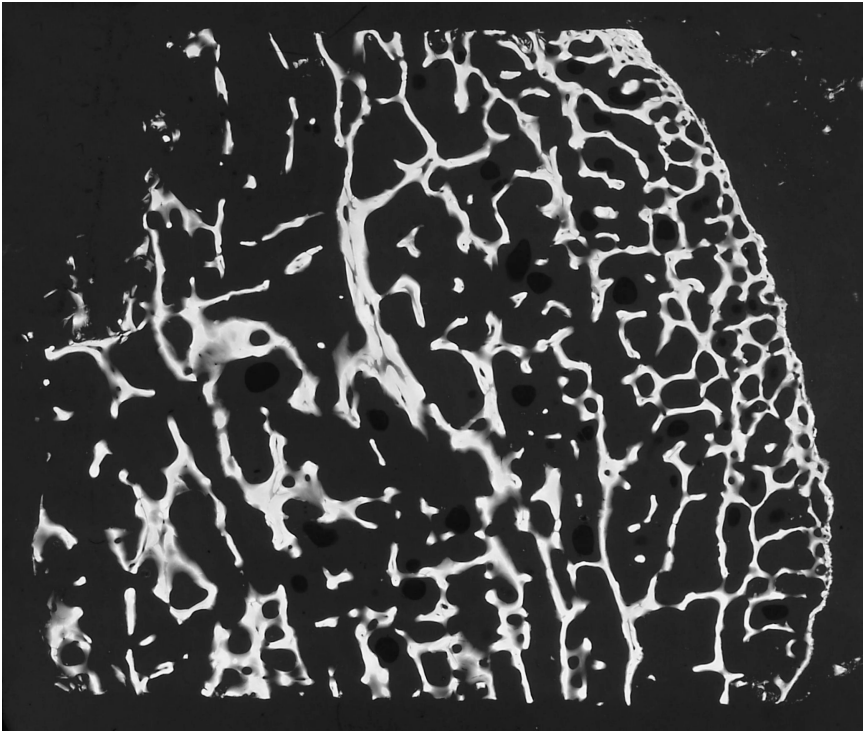


Figura 32: Microrix di osso omologo non innestato

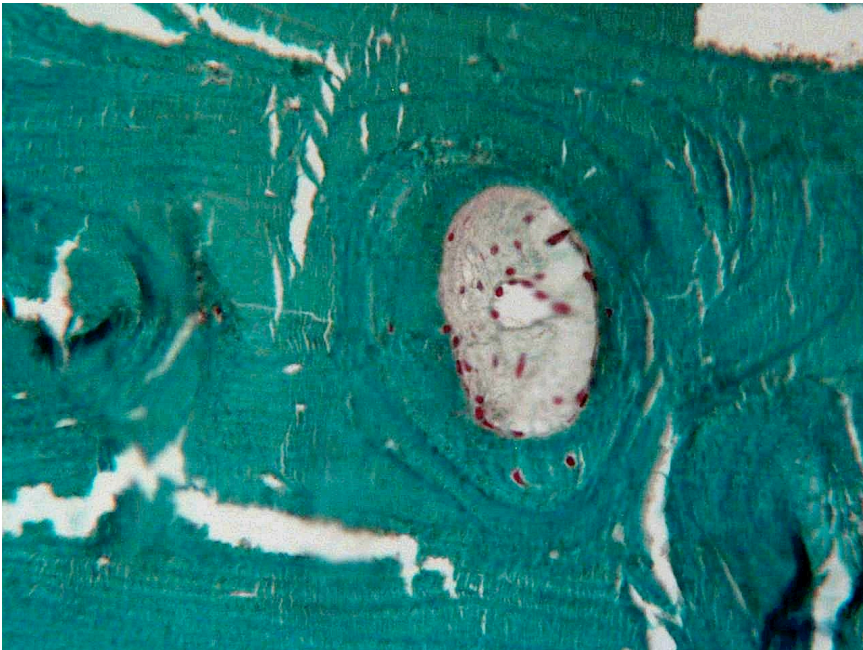


Figura 33: Osso autologo: particolare di canale haversiano neoformato (PR-05)

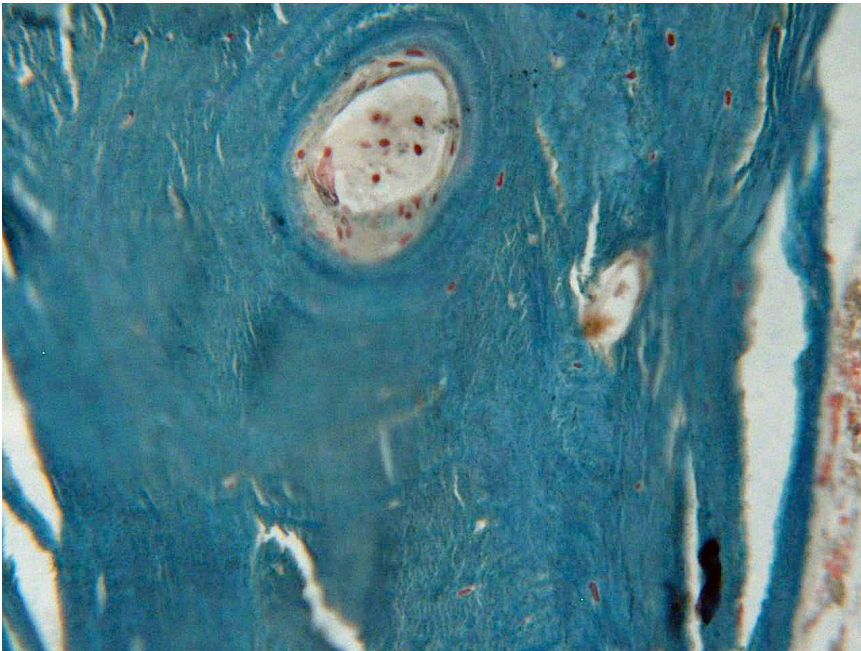


Figura 34: Osso omologo: particolare di canale haversiano neoformato (PR-03)

In entrambe queste figure (Figure 33 E 34) si può evidenziare l'avvenuta neoformazione ossea. E' presente sia nell'innesto di osso omologo che autologo un osteone neoformato, all'interno del quale si evidenziano sia le tonache vascolari sia gli eritrociti. L'osso che circonda circonfenzialmente il canale vascolare è di tipo lamellare ed al suo interno si riconoscono osteociti vitali.

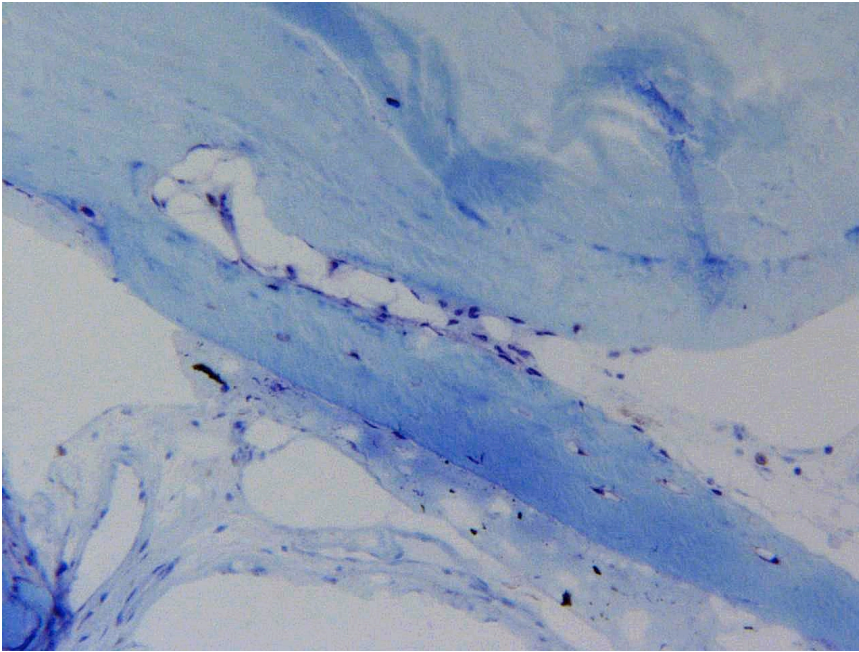


Figura 35: Osso neoformato in innesto di osso autologo (PR-04)

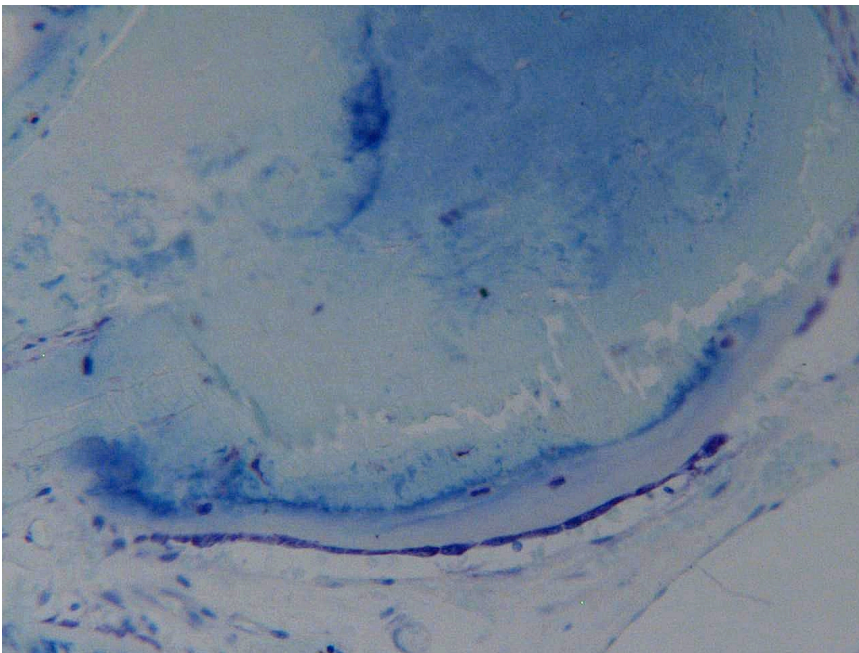


Figura 36: Osso neoformato in osso omologo (PR-03)

In entrambe le figure (Figure 35 e 36) si osserva la iniziale fase osteogenetica in corso: sono presenti osteoblasti in fase attiva, con tipica morfologia cuboidale, giacenti su uno strato di tessuto osteoide, tipico della prima fase di mineralizzazione dell'osso in via di formazione, che appare più chiaro alla colorazione con Blu di Toluidina.

Inoltre sono visibili anche alcuni osteoblasti che vengono incorporati nella matrice osteoide ed che andranno a formare nuovi osteociti intrappolati nell'osso neoformato. Ad oggi le indagini istomorfometriche sono ancora in corso, così come lo studio dell'osso neoformato sulle sezioni fotografate a fluorescenza.

## DISCUSSIONE

L'utilizzo di osso omologo fresco congelato, non liofilizzato e non demineralizzato, in chirurgia preimplantare è relativamente poco documentato. Perrott DH e Smith RA (42), nel loro studio del 1992, ritengono che l'innesto di osso omologo sia in grado di incorporarsi al letto ricevente, di vascolarizzarsi in modo adeguato e di supportare impianti endossei. L'assenza di complicanze post-operatorie e di infezioni è stato avvalorato anche, nel 1996, da Köndell (57), il quale a conclusione del suo studio sulla presenza nel sangue periferico di autoanticorpi in pazienti trattati con innesti di osso omologo, non trovò segni di reazione immunitaria in nessun paziente, e definì il materiale omologo quindi privo di rischio infettivo. I risultati degli innesti a blocco di osso omologo fresco congelato che si evidenziano in letteratura (44-54) sono riportati nella tabella 7.

STUDIO	BARONE	D'ALOJA	PERROTT	GOMES	GRECCHI	CONTAR	VISCIONI
<b>N° PAZIENTI</b>	13	2	10	8	11	15	58
<b>TIPO DI OSSO</b>	Femore	X	Ala iliaca	Femore	Femore da donatore vivente	Piatto tibiale	Ala iliaca
<b>N° GRAFT INSERITI</b>	24	2	10	8	11	34	X
<b>N° GRAFT PERSI</b>	2	0	0	0	0	0	0
<b>N° IMPIANTI INSERITI</b>	38	7	29	X	84	51	238
<b>N° IMPIANTI PERSI</b>	2	0	1	X	2	0	0
<b>FOLLOW-UP</b>	X	X	26 mesi	1-6 anni	17 mesi	24-35 mesi	7-43 mesi
<b>NOTE</b>	2 impianti GBR alla scopertura	X	1 impianto non caricato	X	innesti in Lefort 1	1 graft scoperto ma rimasto in sede	11 pz edentuli totali

• Tabella 7

I risultati del presente studio clinico confermano, in accordo con la letteratura, l'assenza di complicanze post-operatorie. Smolka (58) ha svolto nel 2006 un interessante studio sul mantenimento volumetrico degli innesti, coinvolgendo 15 pazienti a cui è stato effettuato un innesto di osso autologo prelevato dalla calvaria. Ogni paziente è stato sottoposto ad un esame radiografico tramite TC subito dopo l'intervento, dopo 6 mesi e dopo un anno; i volumi ossei sono stati quindi valutati nei tre intervalli di tempo. I risultati hanno evidenziato un riassorbimento osseo dell'innesto del 10.7% dopo 6 mesi e del 19.2% dopo un anno. Uno studio più recente (59) ha valutato le variazioni volumetriche di innesti prelevati dalla cresta iliaca e dalla sinfisi mentoniera, ottenendo il 37% di riassorbimento nel prelievo dalla cresta iliaca e il 46% di riassorbimento nel prelievo dalla sinfisi mentoniera. Il dato inerente il prelievo dalla sinfisi è sovrapponibile a quello ottenuto nel presente studio (47% a 6 mesi), in cui gli innesti autologhi sono stati tutti prelevati da siti intra-oral (sinfisi mentoniera e branca montante della mandibola). Questo può far pensare che gli innesti autologhi prelevati da siti extra-oral abbiano una maggiore capacità di mantenimento dei volumi ossei rispetto sia a quelli autologhi prelevati da siti intra-oral sia a quelli di origine omologa.

Sempre Smolka nel suo studio del 2006 ha analizzato le densità ossee al momento dell'innesto e a sei mesi, osservando al tempo zero una densità media di 1054 HU e a 6 mesi di 1056HU, l'aumento è stato quindi di dello 0.2%. Il presente studio ha riportato una diminuzione media di densità dell'osso autologo del 2% mentre nell'osso omologo la densità ossea media è aumentata del 41,8%. Va evidenziato, tuttavia, che i valori di partenza inerenti l'osso omologo (353,6 HU) sono decisamente più bassi rispetto a quelli dell'osso autologo (1172,2 HU), in accordo con l'analisi istologica, che ha mostrato una

struttura essenzialmente spongiosa, con una ridotta connettività trabecolare nel primo caso e una corticale ossea molto compatta. nel secondo. Classificando la qualità dell'osso in base alla densità elaborata da Norton MR e Gamble C (60) nel 2001, si può infatti classificare l'osso autologo nel tipo D2, cioè un osso corticale spesso di buona qualità, mentre quello omologo nel tipo D3, che è un osso con corticale più sottile e di qualità inferiore. Questa discrepanza può essere spiegata in parte con la scelta della sede di prelievo e parzialmente anche con l'età media dei donatori, più avanzata nel caso dei campioni di osso omologo, i quali quindi hanno subito anche talora fenomeni osteoporotici, evidenti all'istologia.

Dall'analisi dei risultati si può concludere che gli innesti di osso omologo consentono di poter ridurre i tempi d'intervento, di minimizzare la morbilità post-operatoria e di poter disporre di grandi quantità di osso con un rischio di trasmissione d'infezioni praticamente assente. Nonostante si possa considerare in grado di supportare impianti osteointegrati, l'osso omologo rimane inferiore a quello autologo per quanto riguarda la qualità dell'osso e la capacità di mantenere una stabilità volumetrica. L'osso omologo può sicuramente trovare importanti indicazioni allorché i pazienti necessitano, per ottenere un adeguato volume osseo, di un innesto autologo di provenienza extraorale; eventualmente, questa, limitata alle grosse atrofie alveolari.

Dai risultati ottenuti si ricava anche la necessità di effettuare studi clinici su campioni più ampi e mirati ad investigare le specifiche differenze di comportamento degli innesti ossei autologhi ed omologhi, come evidenziate nel presente studio, prima di utilizzare i block graft omologhi nella routine clinica. E' necessario altresì monitorare nel tempo il riassorbimento degli innesti omologhi che sembrano avere una maggiore tendenza a riassorbirsi (Figure 37,38,39,40).

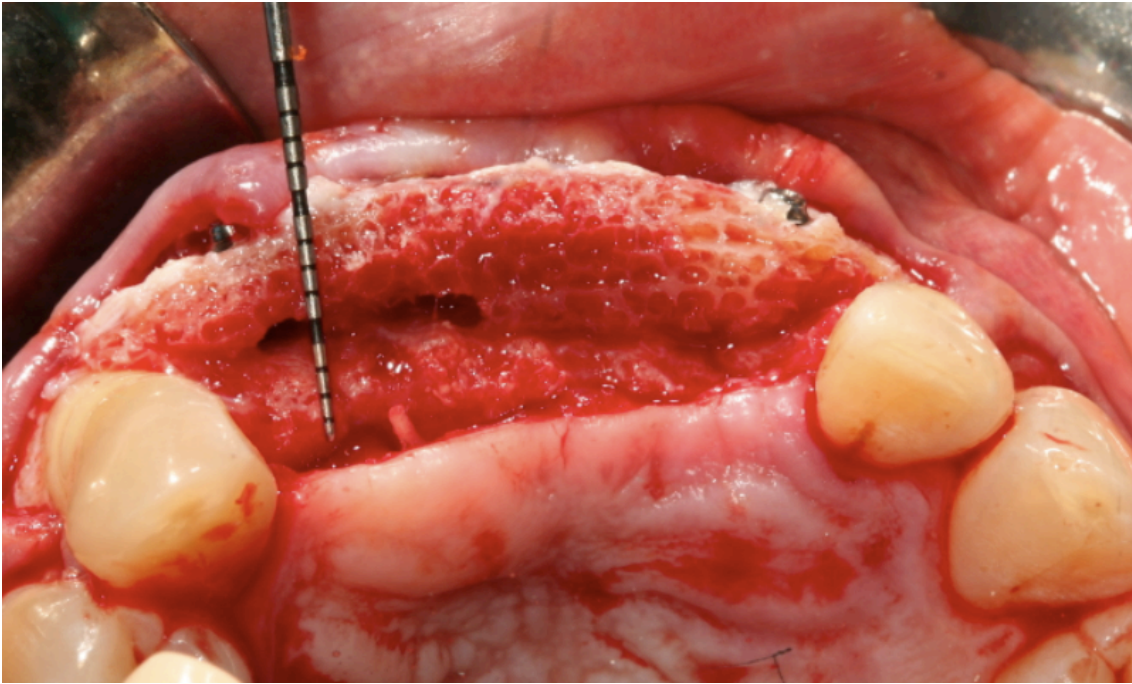


Figura 37: Innesto omologo inserito al tempo 0

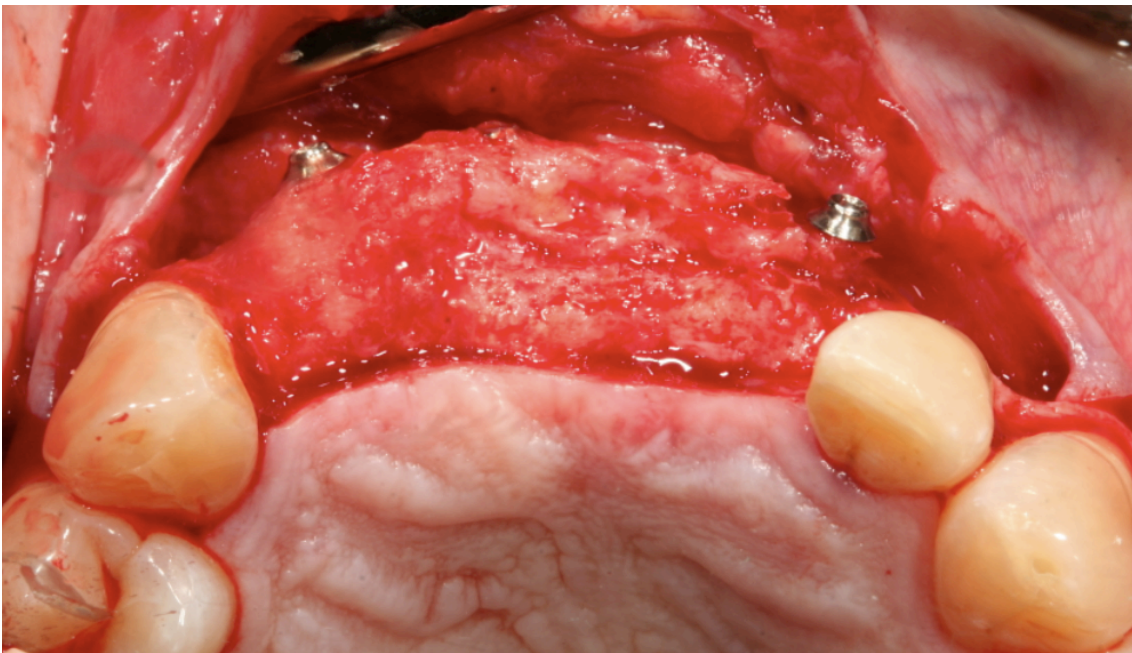


Figura 38: Innesto omologo dopo 6 mesi dall'intervento

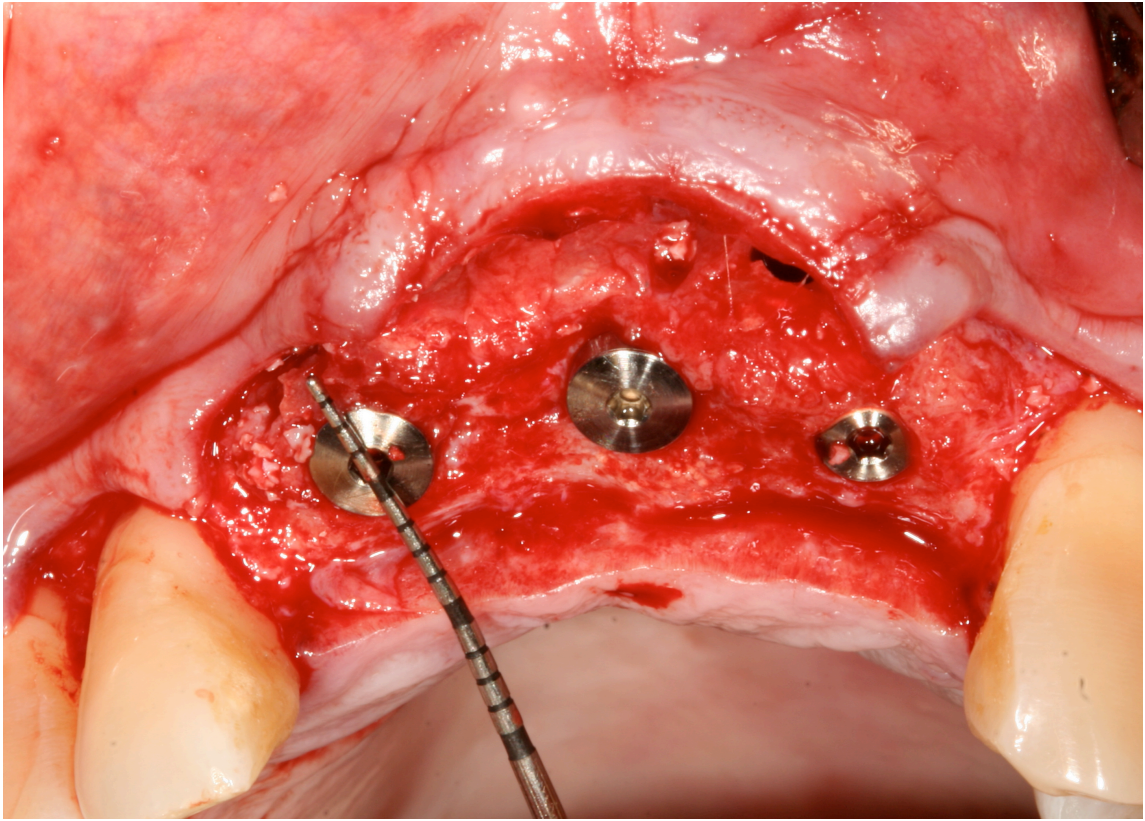


Figura 39: Inserimento impianti dopo 6 mesi dall'innesto

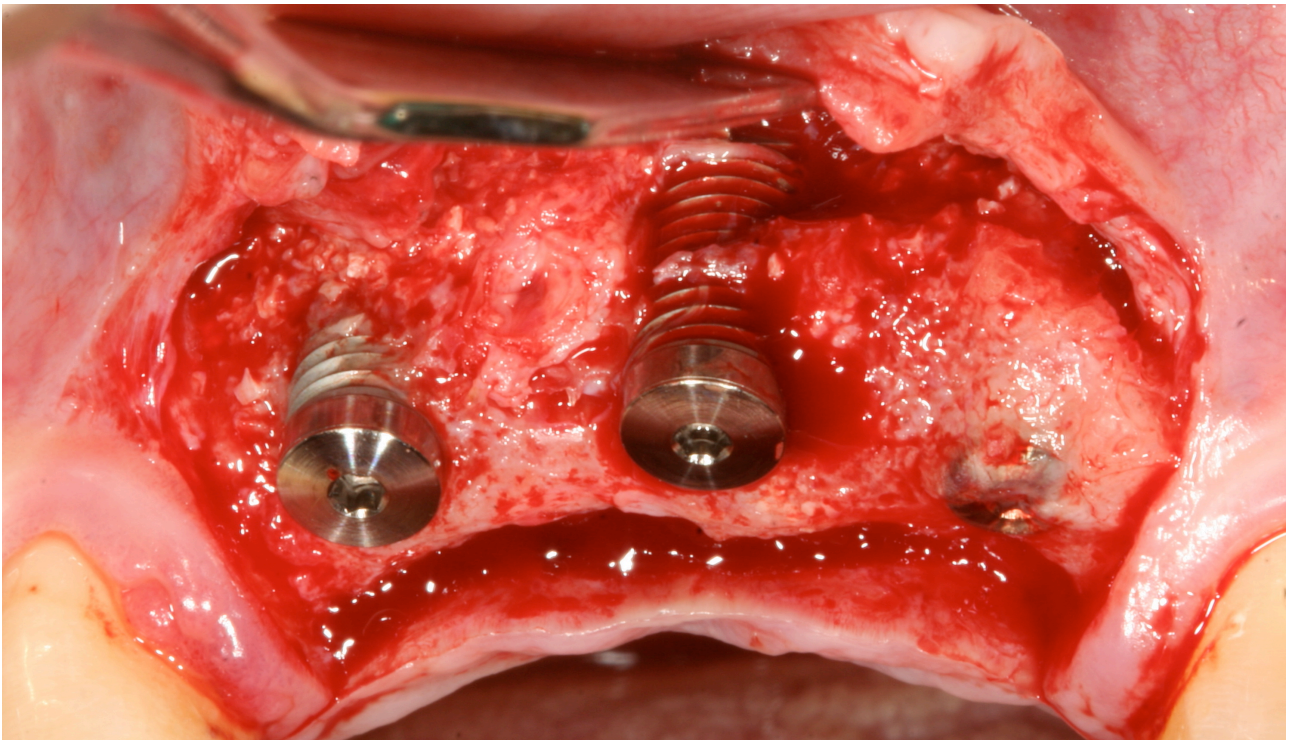


Figura 40: Scopertura impianti 6 mesi dopo l'inserimento, 1 anno dopo l'innesto.

## BIBLIOGRAFIA

1. Jensen SS, Terheyden H. Bone augmentation procedures in localized defects in the alveolar ridge: clinical results with different bone grafts and bone-substitute materials. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;24 Suppl:218-36.
2. Roach HI. Why does bone matrix contain non-collagenous proteins? The possible roles of osteocalcin, osteonectin, osteopontin and bone sialoprotein in bone mineralisation and resorption. *Cell Biol Int*. 1994 Jun;18(6):617-28.
3. Robey PG. Vertebrate mineralized matrix proteins: structure and function. *Connect Tissue Res*. 1996;35(1-4):131-6.
4. Bar-Shavit Z. The osteoclast: a multinucleated, hematopoietic-origin, bone-resorbing osteoimmune cell. *J Cell Biochem*. 2007 Dec 1;102(5):1130-9
5. Lee SK, Lorenzo JA 1999. PTH stimulates TRANCE and inhibits osteoprotegerin messenger ribonucleic acid expression in murine bone marrow cultures: Correlation with osteoclast-like cell formation. *Endocrinology* 140:3552-3561.
6. Fu Q, Jika RL, Manolaga SC, O'Brien CA 2002 PTH stimulates receptor activator of NFkappa B ligand and inhibits osteoprotegerin expression via protein kinase A activation of cAMP-response element-binding protein. *J Biol Chem* 277:48868-48875

7. Leventhal G.S. : Titanium a metal for surgery. J Bone Joint Surg Am. 1951; 33 : 473-479.
8. Pasqualini U. : Reperti anatomo patologici e deduzioni clinico chirurgiche di 91 impianti alloplastici in 28 animali da esperimento. Riv Ital Stomatologia. 1963; 13 : 36-98.
9. Berg S, Emneus H. : Some aspects of titanium as an implant material. Avesta Jernvek AB, Avesta. Sweden, 1967.
10. Brånemark P.I., Breine U., Lindström J., Adell R., et al. : Intra-osseous anchorage of dental prostheses. Experimental studies. Scand J Plast Reconstruct Surg Hand Surg. 1969; 3 : 81-91.
11. Brånemark P.I. : Osseointegration and its experimental background. J Prosthet Dent. 1983; 50 : 399-410.
12. Brånemark P.I., Zarb G., Albrektsson T. : Tissue integrated prosthesis: osseointegration in clinical dentistry. Quintessence Publishing Co. Chicago, 1985.
13. Linkow L., Glasman P.E., Asnins S.T. : Macroscopic and microscopic studies of endosteal blade vent implants. Oral Implant. 1973; 3 : 281-309.
14. James R.A. : The support system and the perigengival defense mechanism of oral implants. Oral Implantol. 1976; 6 : 178-270.
15. Babbush C.A. : Endosseous blade implants: a research review. J Oral Surg. 1972; 30 : 168-175.

16. Bianchi A. in : *Implantologia ed Implantoprotesi*. UTET, 1999.
17. Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1986 Summer;1(1):11-25.
18. Lekholm U, Gunne J, Henry P, et al. Survival of the Branemark implant in partially edentulous jaws: a 10-year prospective multicenter study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1990;14:639-645.
19. Cawood J.I., Howell H.A. "A classification of the edentulous jaws" in *int J Oral Maxillofac Surg*, 1988, 17: 232-6.
20. Albrektsson T, Zarb GA. Current interpretation of the osseointegrated response: clinical significance. *Int J Prosthodont* 1993;6:95-105.
21. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J* 2001; 10:96–101.
22. Urist MR. Bone morphogenetic protein induced bone formation and the bone-bone marrow consortium. In: Asbi M, Regazzoni P (eds). *Bone Transplantation*. Berlin: Springer, 1989:185-197.

23. Urist MR, Nilsson O, Rasmussen J, et al. Bone Regeneration under the influence of a bone morphogenetic protein (BMP) betatricalcium phosphate (TPC) composite in skull trephine defects in dogs. Clin Orthop 1987; 214: 295-304.
24. Niederwanger M, Urist MR. Demineralized bone matrix supplied by bone banks for a carrier of recombinant human bone morphogenetic protein (rh-BMP-2): A substitute for autogenetic bone grafts. J Oral Implantol 1996;22:210-215.
25. Bauer TW, Musclher GF (2000) Bone graft materials. Clin Orthop 371:10–27.
26. Boyne PJ (1971) Transplantation, implantation and grafts. Dent Clin North Am 15:433–453.
27. Chiapasco M, Romeo E (2003) La riabilitazione implanto- protesica nei casi complessi. UTET.
28. Enneking WF (1962) Immunologic aspects of bone trans- plantation. South Med J 55:894–899.
29. Burchardt H: The biology of bone graft repair. Clin Orthop Rel Res 1983; 174(4): 28-42.
30. Urist MR, Delange RJ, Finerman GAM: Bone cell differetiation and growth factors. Science 1983; 22: 680-686.

31. Marx RE. Clinical application of bone biology to mandibular and maxillary reconstruction. *Clin Plast Surg*. 1994 Jul;21(3):377-92.
32. Stevenson S. Biology of bone grafts. *Orthop Clin North Am*. 1999 Oct;30(4):543-52.
33. Chiapasco M, Casentini P, Zaniboni M. Bone augmentation procedures in implant dentistry. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009;24 Suppl:237-59.
34. Chiapasco M, Zaniboni M, Boisco M. Augmentation procedures for the rehabilitation of deficient edentulous ridges with oral implants. *Clin Oral Implants Res*. 2006 Oct; 17 Suppl 2:136-59.
35. Kubler N, Reuther J, Kirchner T, Priessnitz B, Sebald W. Osteoinductive, morphologic, and biomechanical properties of autolyzed, antigen-extracted, allogeneic human bone. *J Oral Maxillofac Surg*. 1993 Dec;51(12):1346-57.
36. Carnes DI, Cochran DL, Melloning TJ (1999) Evaluation of two novel approaches for assessing the ability of DFDBA to induce new bone formation. *J Periodontol* 70:353–363.
37. Isaksson S, Alberius P (1992). Comparison of regenerative capacity elicited by demineralized bone matrix of different embryologic origins. *J Cranio Maxillofac Surg* 20:73– 80.
38. Okada Y, Sakakida K, Fujita T, Mizutabi A (1990) Experimental studies on half-joint transplantation. Antigenicity of fresh allografted articular cartilage and changes in the articular cartilage. *Int Orthop* 14:261–267.

39. Stevenson S, Li XQ, Davy DT, Klein L, Goldberg VM (1997) Critical biological determinants of incorporation of non-vascularized cortical bone grafts. Quantification of a complex process and structure. *J Bone Joint Surg Am* 79:1–16.
40. Mizutani A, Fujita T, Watanabe S, Sakakida K, Okada Y (1990) Experiments on antigenicity and osteogenicity in allotransplanted cancellous bone. *Int Orthop* 14:243–248.
41. Shasha N, Krywulak S, Backstein D, Pressman A, Gross AE (2003) Long-term follow-up of fresh tibial osteochondral allografts for failed tibial plateau fractures. *J Bone Joint Surg Am* 85(suppl 2):33–39.
42. Perrott DH, Smith RA, Kaban LB (1992) The use of fresh frozen allogenic bone for maxillary and mandibular reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg* 21:260–265.
43. Grecchi F, Zollino I, Parafioriti A, Mineo G, Pricolo A, Carinci F. One-step oral rehabilitation by means of implants' insertion, Le Fort I, grafts, and immediate loading. *J Craniofac Surg*. 2009 Nov;20(6):2205-10.
44. Franco M, Viscioni A, Rigo L, Guidi R, Zollino I, Avantiaggiato A, Carinci F. Clinical outcome of narrow diameter implants inserted into allografts. *J Appl Oral Sci*. 2009 Aug;17(4):301-6.
45. Franco M, Rigo L, Viscione A, De Santis B, Tropina E, Brunelli G, Guidi R, Avantiaggiato A, Carinci F. CaPO<sub>4</sub> blasted implants inserted into iliac crest homologue frozen grafts. *J Oral Implantol*. 2009;35(4):176-80.

46. Carinci F, Guidi R, Franco M, Viscioni A, Rigo L, De Santis B, Tropina E. Implants inserted in fresh-frozen bone: a retrospective analysis of 88 implants loaded 4 months after insertion. *Quintessence Int.* 2009 May;40(5):413-9.
47. Contar CM, Sarot JR, Bordini J Jr, Galvão GH, Nicolau GV, Machado MA. Maxillary ridge augmentation with fresh-frozen bone allografts. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009 Jun;67(6):1280-5.
48. Viscioni A, Franco M, Rigo L, Guidi R, Brunelli G, Carinci F. Implants inserted into homografts bearing fixed restorations. *Int J Prosthodont.* 2009 Mar-Apr;22(2):148-54.
49. Carinci F, Brunelli G, Zollino I, Franco M, Viscioni A, Rigo L, Guidi R, Strohmenger L. Mandibles grafted with fresh-frozen bone: an evaluation of implant outcome. *Implant Dent.* 2009 Feb;18(1):86-95.
50. Viscioni A, Franco M, Rigo L, Guidi R, Spinelli G, Carinci F. Retrospective study of standard-diameter implants inserted into allografts. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009 Feb;67(2):387-93.
51. Stacchi C, Orsini G, Di Iorio D, Breschi L, Di Lenarda R. Clinical, histologic, and histomorphometric analyses of regenerated bone in maxillary sinus augmentation using fresh frozen human bone allografts. *J Periodontol.* 2008 Sep;79(9):1789-96.

52. Franco M, Viscioni A, Rigo L, Guidi R, Brunelli G, Carinci F. Iliac crest fresh frozen homografts used in pre-prosthetic surgery: a retrospective study. *Cell Tissue Bank*. 2009 Aug;10(3):227-33. Epub 2008 Dec 2.
53. Gomes KU, Carlini JL, Biron C, Rapoport A, Dedivitis RA. Use of allogeneic bone graft in maxillary reconstruction for installation of dental implants. *J Oral Maxillofac Surg*. 2008 Nov;66(11):2335-8.
54. Barone A, Varanini P, Orlando B, Tonelli P, Covani U. Deep-frozen allogeneic onlay bone grafts for reconstruction of atrophic maxillary alveolar ridges: a preliminary study. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009 Jun;67(6):1300-6.
55. Gielkens PF, Bos RR, Raghoobar GM, Stegenga B. Is there evidence that barrier membranes prevent bone resorption in autologous bone grafts during the healing period? A systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007 May-Jun;22(3):390-8.
56. Esposito M, Grusovin MG, Chew YS, Coulthard P, Worthington HV. Interventions for replacing missing teeth: 1- versus 2-stage implant placement. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009 Jul 8;(3).
57. Köndell PA, Mattsson T, Astrand P, *Immunological responses to maxillary on-lay allogeneic bone grafts*. *Clin Oral Implants Res*, 1996. **7**:373.
58. Smolka W, Eggenberger N, Carollo V, Ozdoba C, Iizuka , *Changes in the volume and density of calvarial split bone grafts after alveolar ridge augmentation*. *J Oral Impl res*, 2006. **17**: 149-155.

59. Sbordone L, Toli P, Menchini-Fabris GB, Sbordone C, Piombino P, Guidelli F, *Volume changes of autogenous bone grafts after ridge augmentation of atropi maxillae and mandibole*. J Oral Maxillofac Surg, 2009. **38**(10): 1059-1065 .
60. Norton MR, Gamble C, *Bone classification: an objective scale of bone density using the computerized tomography scan*. Clinical Oral Implants research, 2001. **12**: 79-84.