

Introduzione alla rigenerazione ossea guidata*

Ugo Covani, Massimiliano Ricci, Simone Marconcini

Biologia dell'osso

Aspetti generali

Il tessuto osseo può essere definito in senso lato come tessuto connettivo specializzato nella funzione di sostegno. Embriologicamente deriva dal mesenchima ed è formato da cellule e da una sostanza intercellulare che contiene un gran numero di fibre di collagene. La caratteristica principale di questa sostanza intercellulare è la ricchezza di minerali, responsabile della sua robustezza, durezza e resistenza a pressione, trazione e torsione. Dal punto di vista macroscopico, si distinguono due tipi di osso: corticale e midollare/trabecolare.

Osso corticale (compatto)

L'osso corticale o compatto (Fig. 1.1) è formato da una struttura di sistemi di Havers o *osteoni*. L'osteone è un cilindro disposto parallelamente all'asse lungo della diafisi. Al centro di ciascun osteone si trova il cosiddetto *canale di Havers*, rivestito di endostio, contenente vasi sanguigni, nervi e tessuto connettivo libero. Ogni canale è circondato da 4-20 lamelle concentriche di fibre di collagene. I canali di Havers hanno sezione trasversale rotonda o ovale e corrono generalmente in direzione longitudinale. Ciascun osteone comunica con la cavità midollare, con il periostio e con gli altri osteoni attraverso canali trasversali o obliqui – i *canali di Volkmann*.

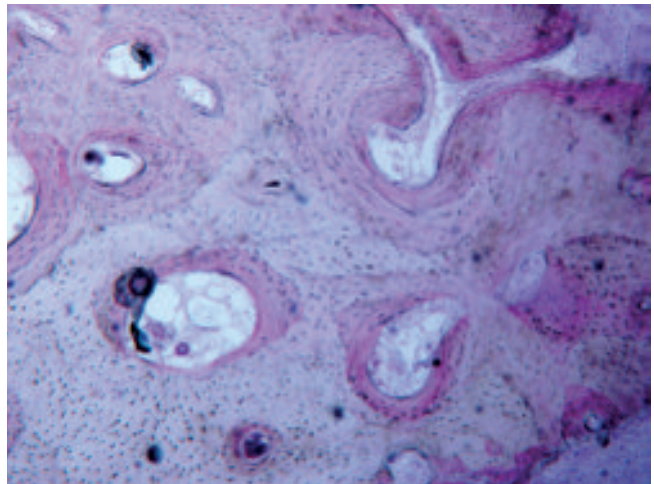


Fig. 1.1 Si può osservare osso corticale compatto con piccoli spazi midollari (blu di fucsina acida-toluidina 40x).

(*) Le immagini istologiche sono state gentilmente fornite dal Prof. Adriano Piattelli (Università di Chieti-Pescara) e dal suo staff.

Gli osteociti sono disposti lungo la circonferenza intorno al canale centrale, parallelamente alle lamelle, e sono interconnessi da sottili processi di citoplasma osteocitario – i *filopodi*. Gli osteociti sono contenuti in lacune interconnesse da *canalicoli* contenenti questi sottili processi citoplasmatici. Tra i sistemi di Havers sono presenti aree irregolari di osso lamellare, o *lamelle interstiziali*. Si tratta di residui di sistemi di Havers precedenti che sono stati rimodellati. Ciascun osteone è separato dal vicino e dalle lamelle interstiziali da una linea di cemento che si colora di scuro con l'ematosilina. Gli strati più esterni e più interni di osso corticale non contengono canali di Havers e le lamelle sono disposte parallelamente alle superfici del periostio e dell'endostio a formare le cosiddette *lamelle circolari* (esterne e interne).

Osso midollare (trabecolare)

L'osso midollare consiste di una serie di placche ossee interconnesse – le *trabecole*. Ogni trabecola ossea contiene fibre di collagene disposte in lamelle parallele. La superficie della trabecola è coperta da uno strato assottigliato di cellule appiattite – gli osteoblasti a riposo. Tale struttura, oltre a fornire un'area superficiale più ampia per le attività metaboliche dell'osso, assicura forza meccanica senza gli svantaggi di un peso eccessivo (Fig. 1.2). Le trabecole più spesse e robuste sono disposte nella direzione soggetta alla tensione maggiore (secondo la legge di Wolff).

Dal punto di vista istologico, si distinguono due tipi principali di osso midollare:

- *Tessuto osseo primario (non lamellare)*. Quest'osso è chiamato anche “a fibre grossolane”, “intrecciato” o “osso immaturo”. È caratterizzato dalla presenza di fibre di collagene grossolane con orientamento casuale, chiaramente visibili al microscopio a luce polarizzata (Figg. 1.3-1.4). L'osso non lamellare (intrecciato) si osserva nelle ossa del feto e dei bambini piccoli. È il primo tessuto osseo che è depositato sulla matrice cartilaginea calcificata nell'ossificazione endocondrale; inoltre è il primo tessuto a comparire nella riparazione dell'osso (guarigione delle fratture).
- *Tessuto osseo secondario (lamellare)*. Chiamato anche osso maturo, è caratterizzato dalla presenza di fibre di collagene disposte a strati o fogli paralleli (lamelle), facilmente riconoscibili al microscopio a luce polarizzata. L'osso lamellare è presente in entrambi i tipi di osso adulto strutturato, corticale (compatto) e spugnoso (trabecolare).

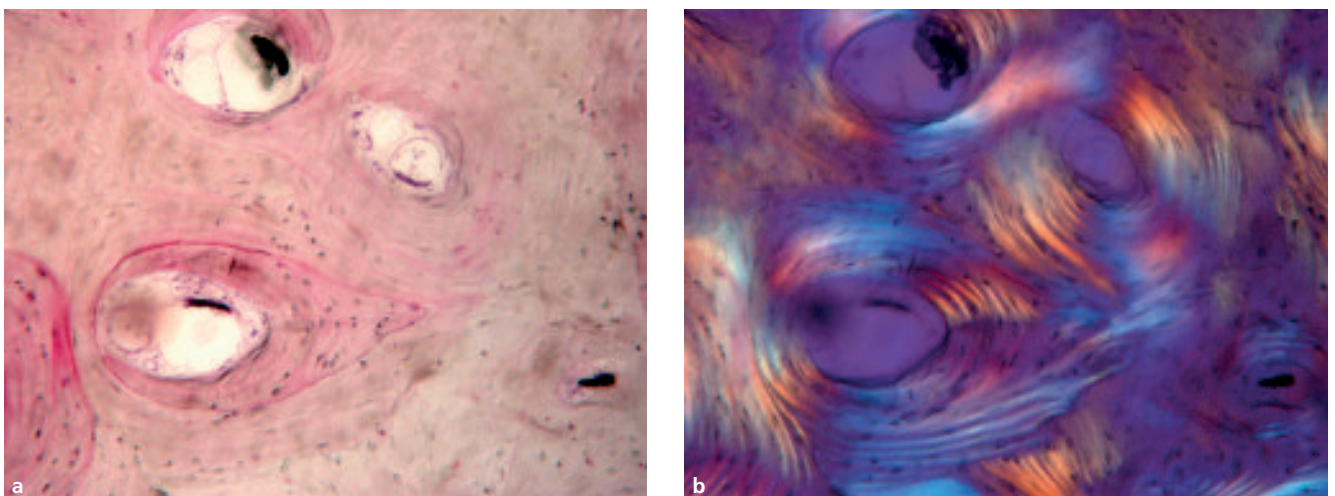


Fig. 1.2 **a)** Sistemi di Havers nell'osso corticale compatto (blu di fucsina acida-toluidina 100×); **b)** sistemi di Havers nell'osso corticale compatto. Si osserva la presenza di fibre di collagene a orientamento parallelo, come avviene nell'osso lamellare (luce polarizzata 100×).

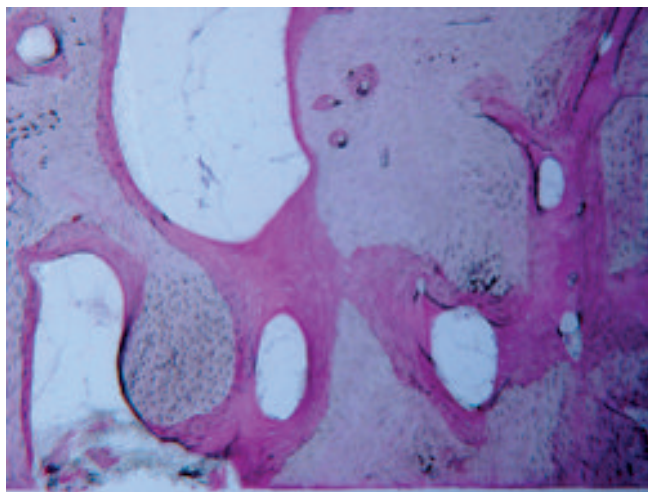


Fig. 1.3 Osso immaturo e osso lamellare. In alcune aree l'osso di nuova formazione sembra soggetto a un processo di rimodellamento (blu di fucsina acida-toluidina 40x).

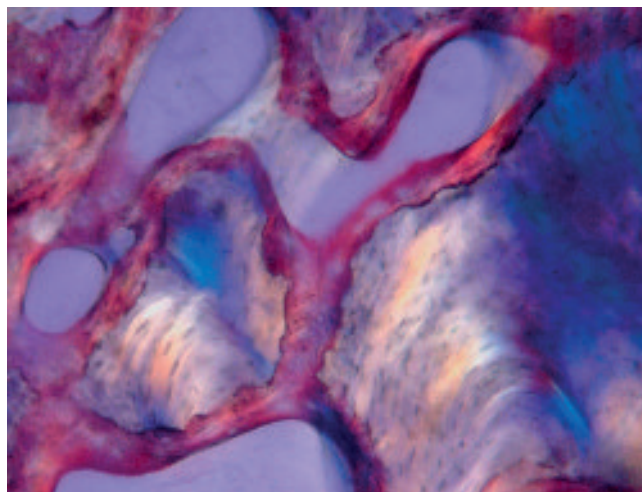


Fig. 1.4 Osso immaturo e osso lamellare. Si osserva la presenza di fibre di collagene a orientamento parallelo, come avviene nell'osso lamellare (luce polarizzata 100x).

Componenti cellulari

L'osso è un tipo di tessuto connettivo altamente specializzato formato da cellule e da una matrice intercellulare. Esistono tre tipi di cellule:

- **Osteoblasti.** Le cellule che formano l'osso, situate sulle superfici ossee fianco a fianco, come un epitelio cubico semplice (Fig. 1.5). Queste cellule sono responsabili della sintesi delle componenti organiche della matrice ossea (Fig. 1.6). Quando sono attive mostrano un'elevata attività della fosfatasi alcalina.
- **Osteociti.** Le cellule che occupano le lacune nella matrice ossea (Fig. 1.7). Esse possiedono processi citoplasmatici lunghi e sottili, i filopodi, situati nei sottili spazi cilindrici o canali nella matrice ossea. Gli elementi nutritivi e l'ossigeno passano tra i vasi sanguigni e gli osteociti remoti grazie alla disposizione dei canalicoli. Inoltre, gli osteociti disgregano la matrice ossea mediante l'osteolisi osteocitica, per rilasciare calcio utile all'omeostasi.
- **Osteoclasti.** Grosse cellule polinucleate formate dalla fusione di monociti. Esse si trovano in aree della superficie ossea caratterizzate da depressioni poco profonde chiamate *lacune di Howship*.

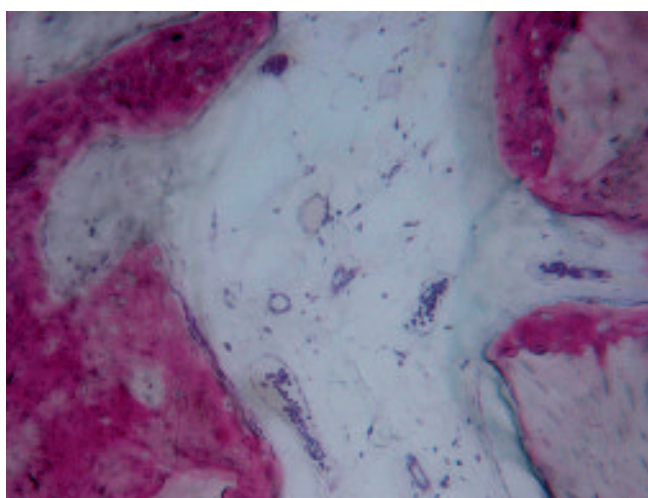


Fig. 1.5 Si possono rilevare osso intrecciato e un bordo di cellule osteoblastiche in prossimità di un vaso sanguigno (blu di fucsina acida-toluidina 100x).

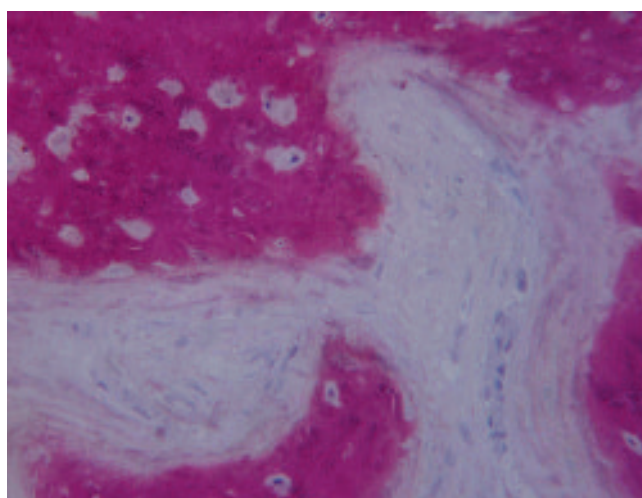


Fig. 1.6 Osso intrecciato e un bordo di cellule osteoblastiche che producono attivamente matrice osteoide (blu di fucsina acida-toluidina 200x).

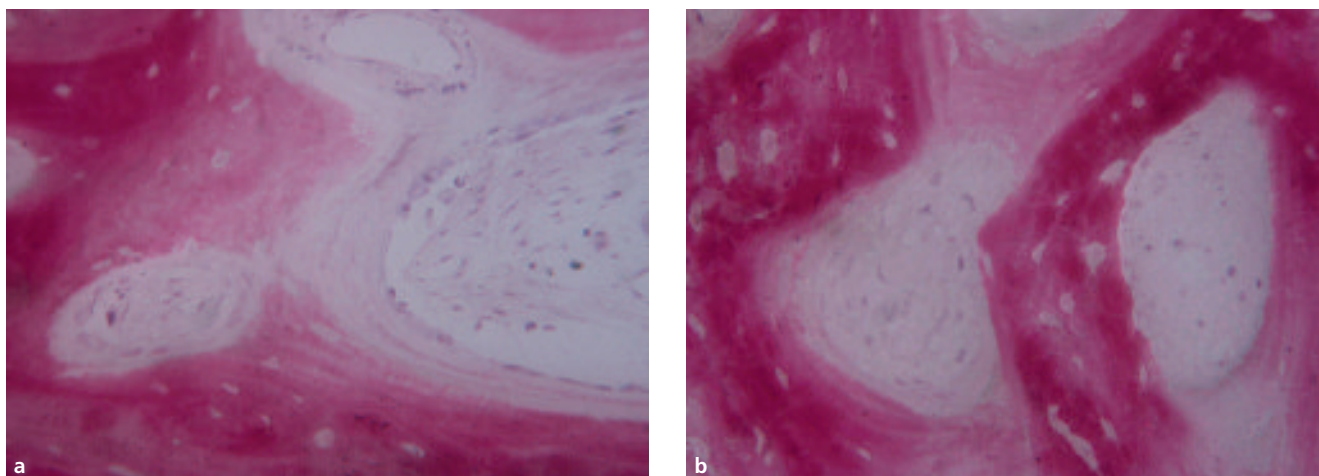


Fig. 1.7 a-b) Osso intrecciato con ampie lacune di osteociti e matrice osteoide (blu di fucsina acida-toluidina 200x).

Matrice ossea

La matrice ossea è composta da:

- *Materia organica*. Formata da fibre di collagene di tipo I, presenti in una sostanza di base contenente proteoglicani e glicoproteine. Le fibre di collagene sono formate da fasci di fibrille che resistono alle forze di trazione.
- *Materia inorganica*. La materia inorganica consiste di sostanze indurenti destinate a resistere a piegatura e compressione. Il minerale osseo è un analogo dei cristalli di fosfato di calcio – idrossiapatite di calcio ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) – una sostanza visibile solo al microscopio elettronico. Questa associazione dell'idrossiapatite con le fibre di collagene è responsabile della durezza dell'osso.

Midollare

Questo tessuto riempie le cavità cilindriche delle ossa lunghe e occupa gli spazi dell'osso trabecolare. Nelle ossa lunghe la midollare è di colore giallo e consiste prevalentemente in cellule adipose e alcune cellule midollari (Fig. 1.8). Al contrario, la midollare delle ossa piatte e corte è di colore rosso e contiene tessuto connettivo, vasi sanguigni e numerose "cellule midollari" – mielociti, eritroblasti, cellule giganti e alcune cellule adipose (Fig. 1.8). Il midollo osseo è l'organo dell'ematopoiesi. Alla nascita questo processo avviene in tutte le ossa. Con la maturazione, l'ematopoiesi è limitata alla colonna vertebrale, alle ossa del bacino, alle coste, al cranio e all'estremità prossimale delle ossa lunghe.

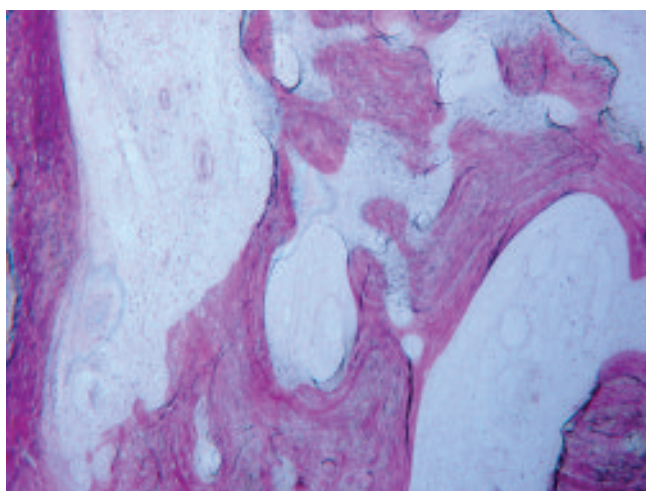


Fig. 1.8 Osso trabecolare con ampi spazi midollari (blu di fucsina acida-toluidina 40x).

Flusso ematico nell'osso

Le componenti di base del sistema vascolare, l'arteria nutriente principale e le arterie metafisarie, trasportano il sangue dalla circolazione quasi esclusivamente nel midollo. La pressione intravascolare nel midollo è superiore rispetto all'area del periostio. Questo gradiente di pressione è il principale fattore di mantenimento del flusso ematico centrifugo nell'osso. Le arteriole del periostio convogliano il sangue alla corteccia diafisaria solo lungo le pesanti inserzioni fasciali. Le loro diramazioni terminali formano nella corteccia un'anastomosi con i rami terminali del sistema arterioso midollare. Il flusso arterioso midollare assicura la circolazione ai due terzi interni della corteccia, lasciando al flusso arterioso del periostio la circolazione verso il restante terzo esterno.

Ingegneria tissutale

Principi di base

L'obiettivo dell'ingegneria tissutale e della medicina rigenerativa è l'implementazione di tecniche finalizzate a creare un prodotto che, in questo caso, è il tessuto osseo. L'aspetto più importante di questo ambito di ricerca è lo studio delle interazioni tra le cellule e la matrice ossea con i fattori ambientali. A seguito di questa interazione, le cellule possono proliferare e produrre molecole di matrice. Nella progettazione di tessuti e nella medicina rigenerativa i biomateriali sono usati come impalcatura o *scaffold*. A prescindere dalla loro composizione, i biomateriali devono essere scelti in considerazione di diversi fattori:

1. Lo scaffold deve avere una microstruttura in grado di accogliere le cellule e consentirne le funzioni – in genere è necessaria una struttura porosa. La porosità adeguata, il diametro e l'orientamento dei pori richiesti possono variare in base al tipo di tessuto da rigenerare.
2. Lo scaffold deve essere riassorbibile. La velocità di riassorbimento del materiale può essere determinata in base alla velocità di formazione del nuovo tessuto e al normale periodo di rimodellamento del tessuto nel sito di innesto.
3. Le proprietà meccaniche del biomateriale impiegato come scaffold sono importanti per garantire il sostegno temporaneo dei carichi applicati e per resistere ai carichi funzionali e alle forze contrattili esercitate dalle cellule presenti prima dell'innesto. Anche la rigidità dello scaffold è importante, perché influisce sulla tensione applicata ai tessuti proliferati al suo interno e a quelli circostanti.

Bisogna considerare che lo scaffold svolge un ruolo differente durante il processo di rigenerazione, dove funge da supporto per la migrazione cellulare dai tessuti circostanti verso l'area da rigenerare. Prima del riassorbimento, lo scaffold può fungere da matrice per l'adesione delle cellule, inoltre può stimolare e regolare determinati processi cellulari come mitosi, sintesi e migrazione. Tali azioni potrebbero essere mediate da ligandi dei recettori cellulari. Ancora, lo scaffold può costituire un veicolo di trasporto per cellule esogene, fattori di crescita e geni. Lo scaffold rinforza il difetto mantenendone la forma e previene le distorsioni possibili provocate dai tessuti circostanti. Infine, lo scaffold può fungere da barriera per impedire l'infiltrazione di altri tessuti.

Modello e produzione degli scaffold

Per produrre materiali porosi idonei a essere utilizzati come scaffold sono stati impiegati numerosi metodi:

- Manipolazione di fibre in strutture non intrecciate e intrecciate.
- Integrazione di agenti sacrificali formanti pori, come ghiaccio e particelle solubili.

- Uso di molecole auto-assemblanti.
- Uso della fabbricazione di forme libere solide.

La rigenerazione naturale dei tessuti richiede tre componenti che devono essere presenti e lavorare insieme: cellule, segnali e supporto (o scaffold) (Fig. 1.9). Questo concetto di triade di elementi significa che l'assenza o la disfunzione di uno di essi potrebbe alterare la rigenerazione del tessuto.

Cellule

La componente cellulare viene intesa come cellule staminali pluripotenti, oppure cellule che si sono differenziate solo in parte nel corso della loro genealogia. Nella rigenerazione ossea, le cellule variano da cellule midollari CD34 o unità cellulari che formano colonie ai rispettivi stadi iniziali, fino alle cellule pre-osteoblastiche e addirittura agli osteoblasti dell'endostio o del periostio.

Segnali

I segnali sono i fattori di crescita e differenziazione come i fattori di crescita di derivazione piastrinica (*Platelet-Derived Growth Factor*, PDGF) e diverse forme di fattori di crescita, tra cui numerose proteine morfogenetiche ossee (*Bone Morphogenetic Protein*, BMP). Questi fattori di crescita agiscono sui recettori della membrana cellulare esterna per stimolare l'espressione di un gene normale.

Matrice (o scaffold)

La matrice è uno scaffold o un graticcio su cui il tessuto cresce e sul quale le cellule migrano. Considerare l'osso omologo o eterologo come uno scaffold non è del tutto corretto. Lo scaffold biologico effettivo è il collagene esposto e le molecole di adesione cellulare, fibrina e fibronectina dal plasma e vitronectina secreta dalle piastrine. Il valore di un biomateriale risiede nella sua capacità di far aderire queste molecole alla propria superficie. Ciò vale anche per gli impianti dentali. Il contatto con l'osso non è diretto sulla superficie del titanio, ma è mediato da queste molecole che vengono depositate inizialmente. Gli osteoblasti secernono una linea di cementazione di sialoproteina e osteopontina nella quale l'osso vero e proprio si stabilizza.

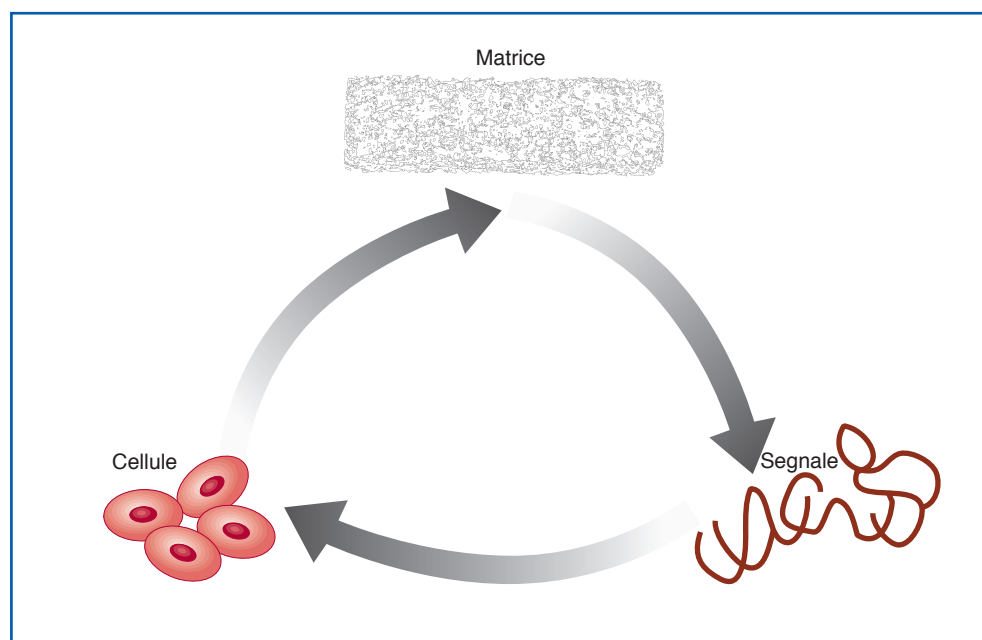


Fig. 1.9 Questo disegno mostra le tre componenti coinvolte nella rigenerazione ossea: matrice, cellule e segnale.

Guarigione dell'osso: un meccanismo cellulare

Quando una fresa penetra nel midollo osseo, le cellule staminali e gli osteoblasti dell'endostio vengono esposti. Inoltre, la cavità che è stata appena formata viene progressivamente riempita da sangue contenente un gran numero di piastrine. Se viene inserito un biomateriale in questa cavità, la sua superficie sarà circondata da un coagulo di sangue nel microspazio tra l'osso e la superficie dell'impianto. Nella prima fase, la degranulazione piastrinica rilascia PDGF-AA/AB/BB e TGF beta 1 e beta 2, fattore di crescita endoteliale vascolare, fattore di crescita dell'epidermide e vitronectina. Inoltre, la frazione di plasma coagulato del sangue deposita fibrina e fibronectina sulla superficie del biomateriale e forma un ponte di collegamento tra la parete ossea e la superficie stessa. I fattori di crescita rilasciati agiscono sulle cellule midollari, sulle cellule endoteliali e sugli osteoblasti dell'endostio determinando un effetto angiogenico e mitogeno che si aggiunge alla migrazione e differenziazione cellulare (Fig. 1.10). Man mano che le cellule si dividono, spingono in avanti le cellule figlie in un processo di "graduale sostituzione" e via via che l'osteoblasta progenitore si differenzia secreta matrice osteoide e diventa un osteocita. La divisione cellulare costante e il processo di graduale sostituzione colmano lo spazio tra la parete del deficit osseo e il biomateriale. Questo biomateriale rappresenta il supporto sul quale le molecole di adesione cellulare (provenienti da sangue e piastrine) possono aderire, collegando le particelle dell'innesto più strettamente l'una all'altra e alle pareti ossee. I segnali provengono dai fattori di crescita rilasciati con la degranulazione delle piastrine durante la loro attivazione nel coagulo, a differenza delle cellule che provengono dagli spazi midollari aperti (Fig. 1.11).

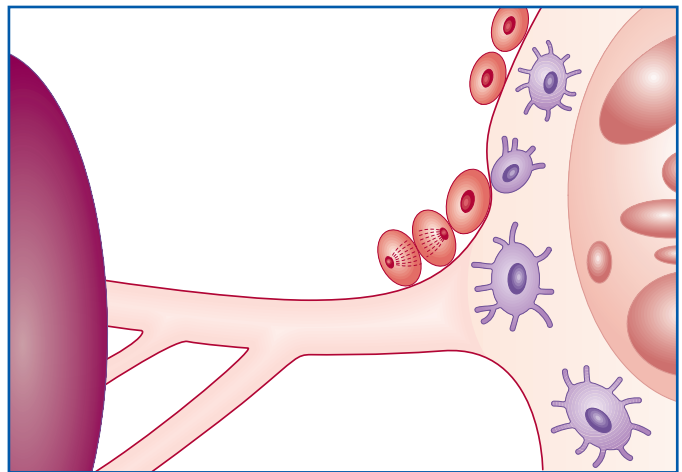


Fig. 1.10 Quando si inserisce un biomateriale in una cavità, la sua superficie viene circondata da un coagulo di sangue. Inoltre, la frazione di plasma coagulato del sangue deposita fibrina e fibronectina sulla superficie del biomateriale e forma un ponte di collegamento tra la parete ossea e la superficie stessa.

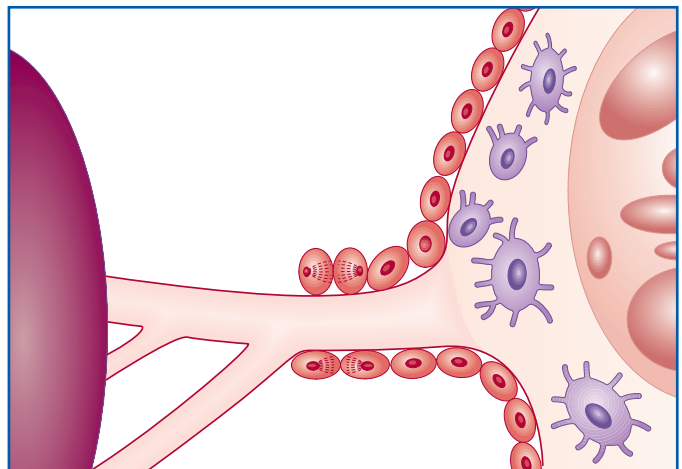


Fig. 1.11 I fattori di crescita rilasciati agiscono sulle cellule midollari, sulle cellule endoteliali e sugli osteoblasti dell'endostio esposti, generando un effetto angiogenico e mitogeno che si aggiunge alle migrazioni e alla differenziazione cellulare.

Rigenerazione ossea guidata

Introduzione

La rigenerazione ossea guidata (GBR) fu inventata come terapia per ottenere la rigenerazione ossea con l'uso di membrane barriera. Il concetto alla base di questa tecnica cerca di creare un sito anatomico isolato per stimolare la guarigione. Fu introdotto per la prima volta 50 anni fa, quando si usarono in via sperimentale filtri in acetato di cellulosa per la rigenerazione di nervi e tendini. Altri autori riferirono la formazione di nuovo osso in corrispondenza di griglie in plastica adattate al di sopra di difetti femorali nel cane. Studi successivi sugli animali riferirono una migliore guarigione ossea di difetti a carico di coste, osso radiale e osso femorale con l'applicazione di acetato di cellulosa e filtri Millipore™. Anche nella regione maxillo-facciale sono stati riferiti risultati positivi in seguito al posizionamento di barriere meccaniche su difetti mandibolari nel coniglio e su difetti cranici nel ratto. Questi studi sperimentali hanno fornito valide evidenze secondo cui la rigenerazione ossea migliora significativamente quando si impedisce meccanicamente l'invasione dei tessuti molli nei difetti ossei. Tuttavia, in questi primi studi, la maggior parte degli autori attribuì il successo delle barriere alla preservazione e alla protezione del coagulo di sangue piuttosto che alla colonizzazione dello spazio isolato creato da parte della popolazione di cellule osteogeniche. Diversi anni fa fu introdotto il principio della rigenerazione tissutale guidata (GTR), secondo il quale la rigenerazione di un certo tipo di tessuto avviene quando cellule con la capacità di rigenerare quel particolare tipo di tessuto perduto hanno la possibilità di popolare il difetto nel corso della guarigione.

Il concetto del trattamento GBR ebbe origine dal principio della GTR. Di conseguenza, il razionale della GBR ha sostenuto l'esclusione meccanica dei tessuti molli indesiderati dalla crescita nel difetto osseo, consentendo quindi l'accesso solo alle popolazioni di cellule osteogeniche derivate dall'osso progenitore. La tecnica GBR comporta il posizionamento di una membrana occlusiva per le cellule di fronte alla superficie ossea, per sigillare fisicamente il sito scheletrico da rigenerare. Inoltre, la membrana crea e mantiene uno spazio separato garantendo un ambiente idoneo alle cellule osteoprogenitrici. La GBR consente la formazione di nuovo osso in aree in cui sono presenti difetti verticali e/o orizzontali. Il principio di base di questa tecnica prevede la creazione di un'area vicina all'osso vitale in grado di contenere un coagulo di sangue protetto in assenza di forze che possano allontanarlo.

Considerato quanto sopra, sono necessarie tre componenti:

- una membrana in grado di prevenire l'instabilità del coagulo di sangue dovuta all'azione muscolare;
- un biomateriale che possa migliorare la stabilità del coagulo e sostenere la membrana sovrastante impedendole di collassare all'interno del difetto;
- osso vitale adiacente che possa offrire supporto vascolare.

La GBR segue una serie di eventi simili ad altri processi di osteogenesi. Per spiegare queste fasi si può facilmente suddividere il processo in tre parti distinte:

Fase 1: formazione dell'osso midollare (4-6 settimane)

Comprende la formazione del coagulo e la migrazione dei vasi sanguigni dall'osso adiacente nell'area della rigenerazione. Ciò consente di ottenere tessuto osteoide formato da osso immaturo intorno ai nuovi vasi sanguigni. Bisogna notare che nel caso di difetti a quattro pareti, questo processo inizia dalla periferia e muove verso il centro, mentre nel caso di difetti a due pareti il processo, più difficoltoso per l'assenza di osso circostante, parte dal centro e va verso la periferia (movimento centripeto) (Fig. 1.12). In questa fase la parte centrale non si è ancora rigenerata e comprende fibre connettivali senza alcun orientamento, fibroblasti e nuovi vasi disorganizzati.

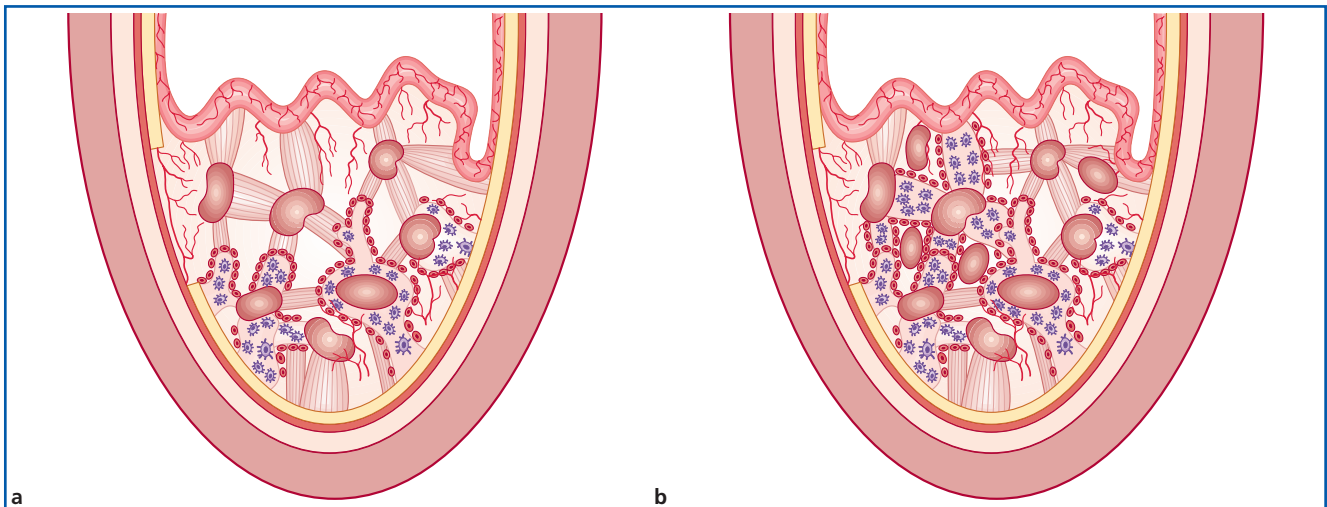


Fig. 1.12 a-b) La Fase 1 comprende la formazione dei vasi sanguigni dall'osso adiacente nell'area della rigenerazione. Ciò consente di ottenere tessuto osteoide dal centro alla periferia.

Fase 2: maturazione dell'osso midollare e formazione dell'osso corticale (2-3 mesi)

Il tessuto osteoide viene progressivamente mineralizzato e in tutte le aree periferiche è presente nuovo osso corticale formato da osso lamellare. L'osso lamellare compare più lentamente perché richiede la formazione di fibre di collagene parallele (Fig. 1.13).

Fase 3: maturazione e rimodellamento dell'osso corticale (dopo 4 mesi)

Un gran numero di osteoclasti eliminano il tessuto fibroso e nuovi osteoblasti depositano osso lamellare, con una riduzione del tessuto connettivo. Nell'area periferica si possono osservare la deposizione di osso corticale, mentre al centro si forma nuovo osso midollare (molto più simile all'osso nativo) (Fig. 1.14).

Tutte queste fasi possono essere modificate in base alle caratteristiche del difetto che il chirurgo orale deve trattare.

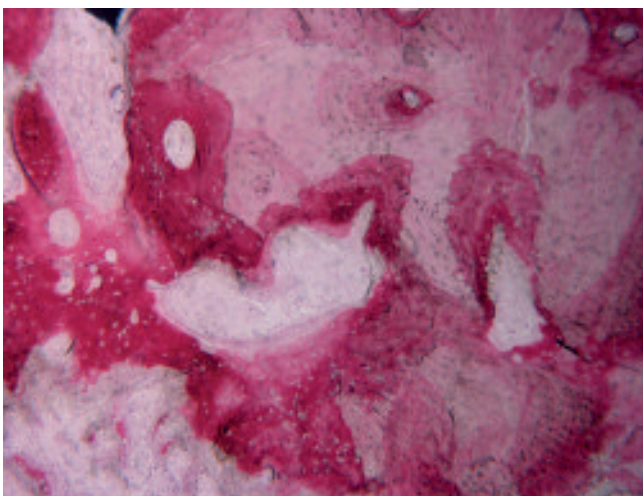


Fig. 1.13 Osso aumentato. Notare la formazione di trabecole ossee, composte da matrice non ancora mineralizzata e osso intrecciato; osservare anche ampie lacune di osteociti (blu di fucsina acida-toluidina 40x).

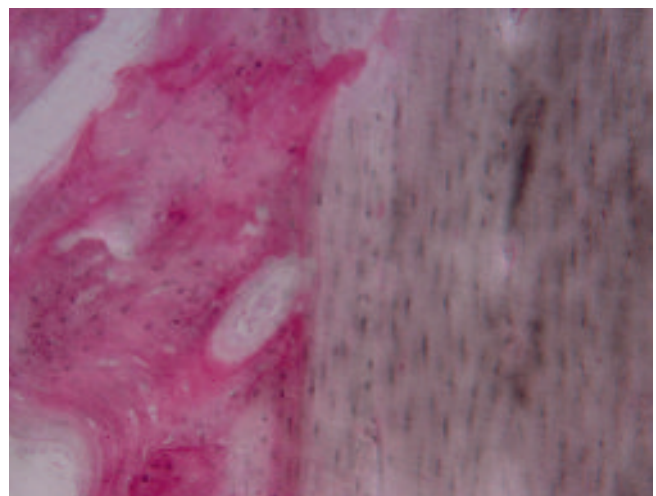


Fig. 1.14 L'osso corticale compatto maturo preesistente e l'osso intrecciato sono distinguibili grazie alla diversa affinità per il colorante. Specificamente, l'osso maturo appare leggermente colorato, mentre l'osso immaturo mostra forte affinità per il colorante (blu di fucsina acida-toluidina 100x).

Superficie ossea

È assolutamente fondamentale che l'area da rigenerare contenga una quantità sufficiente di osso midollare sotto la parte corticale. È essenziale perché perforando lo strato corticale si possono acquisire alcuni vantaggi. Prima di tutto, è possibile ottenere un aumento della concentrazione di fattori di crescita. Inoltre, un gran numero di cellule osteoblastiche può migrare più facilmente nelle aree midollari. Infine, si può stimolare la formazione di nuovi vasi sanguigni.

Considerato tutto ciò, la presenza di uno strato corticale spesso rappresenta un importante svantaggio a causa dell'angiogenesi insufficiente che può compromettere la rigenerazione ossea. Si deve infine tenere presente che, sebbene la perforazione dello strato corticale sia universalmente considerata la scelta ottimale, non vi sono evidenze scientifiche che dimostrino l'effettiva utilità di questo comportamento. Gli esperimenti su crani di coniglio non hanno mostrato vantaggi in termini di guarigione con la perforazione dell'osso corticale.

Caratteristiche del difetto osseo

Le caratteristiche dei difetti ossei, così come le dimensioni volumetriche, possono influenzare i risultati della rigenerazione ossea. È possibile suddividere i difetti ossei in base alla capacità di mantenere lo spazio biologico senza ausili, distinguendo quelli che auto-mantengono lo spazio da quelli che non lo auto-mantengono. Ad esempio, un alveolo post-estrattivo – se intatto – può essere considerato facile da rigenerare, perché le sue pareti possono contenere e proteggere coaguli di sangue. D'altro canto, difetti piatti come un'area edentula o un'area con fenestrazioni si dimostrano difficili da rigenerare.

In base a queste considerazioni si possono identificare i difetti ossei che richiedono procedure GBR come verticali o orizzontali, anche se la stabilità del coagulo sembra più problematica nel caso di difetti ossei verticali.

Difetti intraossei

Si tratta di un difetto a quattro pareti in cui sono preservate aree corticali. È il difetto più favorevole, grazie alla stabilità del coagulo di sangue.

Difetti orizzontali

Secondo la classificazione di L. Vanden Bogaerde, se ne possono osservare due tipi:

- *Difetti chiusi*: in cui le pareti in prossimità dell'impianto sono ben mantenute.
- *Difetti aperti*: quando mancano una o più pareti intorno all'impianto.

Difetti verticali

Sono i difetti più comuni nelle parti posteriori di mascella e mandibola e richiedono un volume osseo maggiore per il posizionamento di un impianto (Caso clinico 1).

Membrane

La funzione di una membrana è quella di proteggere il coagulo e impedire la trazione muscolare in assenza di angiogenesi. Una membrana deve soddisfare i seguenti requisiti:

- Deve essere biocompatibile per prevenire reazioni da corpo estraneo.
- Deve essere selettivamente permeabile per consentire lo scambio molecolare.

- Deve avere caratteristiche meccaniche adeguate per mantenere un coagulo stabile.
- Deve essere facile da applicare e modificare.

È possibile suddividere le membrane in due tipi principali: non riassorbibili e riassorbibili.

Membrane non riassorbibili

Le membrane non riassorbibili sono le più studiate. Sono realizzate in politetrafluoroetilene, che consente la diffusione molecolare e agisce da barriera per le cellule e, inoltre, ha la rigidità ideale per la manipolazione. Questa membrana si compone di due parti: gli strati interni in grado di proteggere il biomateriale e lo strato esterno più poroso che consente la crescita del tessuto molle. Alcuni tipi di queste membrane sono dotati di una struttura interna in titanio che ne migliora la capacità di mantenere il volume. Il principale svantaggio che presentano è la necessità di un secondo intervento per rimuoverle; inoltre, la possibilità di infezione è piuttosto alta in caso di esposizione. Questa complicanza può rendere necessaria la rimozione della membrana in tempi brevi. Le membrane in titanio rappresentano un secondo tipo di membrana non riassorbibile. Il loro utilizzo è ideale in combinazione con l'osso autologo. L'esposizione in questo caso non è considerata pericolosa, perché la letteratura ha dimostrato una ri-epitelizzazione del tessuto sovrastante.

Membrane riassorbibili

La necessità di un secondo intervento ha stimolato la ricerca di altri tipi di membrana; le membrane riassorbibili sono state sviluppate proprio per superare questo importante svantaggio. La letteratura scientifica suggerisce tuttavia che le complicanze dell'eventuale esposizione sono minime. Il tasso di riassorbimento non è però prevedibile, poiché dipende da caratteristiche individuali. Le membrane in collagene sono le più usate – sono prodotte con tessuti animali e il loro riassorbimento richiede da 4 a 8 settimane. I principali vantaggi sono la partecipazione diretta di una membrana di questo tipo alla formazione di un coagulo e l'attività chemiotattica. Oggi si producono alcuni tipi di membrane in collagene con legami crociati (*cross-linked*), che mostrano maggiore resistenza alla degradazione e sembrano aprire la strada alla rigenerazione prevedibile.

Biomateriali

La funzione principale di un biomateriale è il mantenimento di uno spazio adeguato tra l'osso e la membrana, per stabilizzare il coagulo e prevenire il collasso della membrana stessa, la causa più frequente di fallimento. L'uso di biomateriali deve essere valutato attentamente in considerazione dell'obiettivo dell'intervento. Se il chirurgo vuole ottenere del tessuto per ricostruzioni anatomiche con finalità estetiche può utilizzare qualsiasi biomateriale, purché biocompatibile e inerte. In molti casi, però, lo scopo della chirurgia ricostruttiva pre-implantare è di ottenere osso funzionale in grado di consentire l'osteointegrazione di un impianto dentale. Ciò significa che il biomateriale ideale deve essere gradualmente riassorbibile e rimodellato dall'osso.

Classificazione

I biomateriali per le procedure di innesto possono essere classificati come innesti autogeni, omologhi ed eterologhi e materiali sintetici.

Innesti autogeni

I biomateriali autogeni sono usati in odontoiatria e nella chirurgia maxillo-facciale orale da oltre trent'anni. Sono impiegati nella rigenerazione ossea e attualmente sono considerati lo standard di riferimento per gli innesti ossei grazie alle proprietà osteogeniche, osteoconduttive e osteoinduttive. L'integrazione dell'innesto in un difetto osseo richiede la corretta vascolarizzazione sia attraverso vasi di nuova sintesi sia con l'anastomosi tra i vasi del sito ricevente e i vasi che si sono formati *ex novo* nell'innesto osseo.

Non vi è risposta immunologica agli innesti autologhi. I principali svantaggi sono la maggiore durata dell'intervento chirurgico, la necessità di un secondo sito chirurgico e la quantità limitata di tessuto disponibile per il chirurgo.

Innesti omologhi

Il tessuto osseo vitale viene prelevato da donatori ed è conservato in banche apposite. L'uso di innesti omologhi è ancora controverso a causa del rischio di infezione; in particolare, il rischio stimato di contrarre HIV è pari a 1:1,6 milioni, rispetto a 1:450.000 nelle trasfusioni di sangue. È necessario eseguire rigorosi controlli di base sul donatore e i suoi famigliari. Gli innesti omologhi vengono testati e trattati prima dell'uso per prevenire qualsiasi rischio di antigenicità o trasmissione di malattie.

L'osso deve essere liofilizzato e demineralizzato (*Demineralised Freeze-Dried Bone*, DFDB) o soltanto liofilizzato (*Freeze-Dried Bone*, FDB).

Innesti eterologhi

I materiali eterologhi sono ottenuti dalle ossa di altre specie animali. La fonte più comunemente utilizzata è l'osso bovino. Gli innesti eterologhi hanno diverse proprietà a seconda dell'origine, della composizione e dell'elaborazione.

- *Innesti di origine bovina.* Questi biomateriali sono formati da cristalli di apatite in forma reticolare, con una superficie interna di circa 70 m²/g che induce la sintesi e la stabilità del coagulo. Molti autori ne hanno confermato le proprietà osteoconduttive. Secondo la Food and Drug Administration (FDA) esiste tuttavia il rischio di trasmissione di malattia di Creutzfeldt-Jakob (CJD) o encefalopatia spongiforme bovina, per cui è necessario selezionare e valutare attentamente l'origine dei tessuti bovini. La preparazione eseguita dal produttore di questi innesti deve essere accuratamente valutata. È evidente che più è elevata la temperatura di sinterizzazione delle particelle ossee, più difficoltoso sarà il loro riassorbimento.
- *Innesti suini collagenati.* Si tratta di un sostituto osseo eterologo che consiste di osso suino sterilizzato sotto forma di particelle a elevata porosità: il collagene contribuisce alla deposizione dei minerali, alla crescita vascolare interna e al legame con i fattori di crescita, creando così un ambiente favorevole alla rigenerazione ossea. La letteratura scientifica ha dimostrato che questo biomateriale è simile all'osso umano, ed è stato riferito che nell'uomo è osteoconduttivo, ben integrato nel sito ospite e riassorbito in maniera incompleta dopo 5 mesi. Inoltre, non ha causato segni di reazioni avverse in uno studio sul coniglio. In un precedente studio con microscopia ottica e a trasmissione di elettroni, il materiale è risultato biocompatibile, ben integrato nell'osso dell'ospite e osteoconduttivo.

Innesti alloplastici

Gli innesti alloplastici sono sostituti ossei sintetici disponibili in diverse dimensioni, forme e strutture. Le caratteristiche strutturali degli innesti alloplastici sono simili a quelle del tessuto osseo.

- *Alloinnesti con idrossiapatite.* L'idrossiapatite è una componente naturale del tessuto duro (65% nel tessuto osseo, 98% nello smalto). L'idrossiapatite sintetica è disponibile in diverse forme: porosa, non porosa, ceramica e non ceramica. Grazie alle proprietà osteointegrative, questo materiale è stato utilizzato nelle tecniche GBR per il rivestimento degli impianti. L'idrossiapatite è bioinerte e biocompatibile, ma non induce rigenerazione ossea significativa.
- *Innesti con fosfato tricalcico.* Il $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ è trattato con naftalene e quindi compattato a 1100-1300 °C per ottenere un diametro di 100-300 μm . Inoltre, durante il riassorbimento, rilascia nel tessuto osseo ioni calcio e magnesio, creando un ambiente ionico corretto che induce l'attivazione della fosfatasi alcalina, fondamentale per la sintesi ossea.
- *Innesti di biovetro.* Le ceramiche di vetro sintetico sono formate da biossido di silicio (45%), ossido di sodio (24,5%) e pentossido di fosforo. Il biovetro è usato principalmente nel rialzo del seno mascellare ed è caratterizzato da particelle con diametro di 300-335 μm . Il biovetro ha proprietà osteoconduttive e la sua solubilità dipende direttamente dall'ossido di sodio.
- *Innesti di idrossiapatite corallina.* L'idrossiapatite corallina è composta di carbonato di calcio (87-98%), stronzio, fluoruro, magnesio, sodio e potassio (2-13%). Ha una struttura porosa (oltre il 45%) con pori del diametro di 150-500 μm . L'idrossiapatite corallina ha proprietà osteoconduttive e il riassorbimento dello scheletro corallino è dovuto all'azione dell'anidrasi carbonica degli osteoblasti.

Conclusioni

La riuscita delle procedure di ricostruzione ossea richiede la coesistenza di diversi elementi fondamentali: la membrana, il biomateriale e la superficie dell'impianto usato, nonché la metodica di preparazione utilizzata dal produttore. Prima di tutto, la membrana deve stabilizzare e proteggere il coagulo di sangue e il biomateriale, prevenendone il distacco e garantendo la formazione di nuovo tessuto. In secondo luogo, il biomateriale svolge un ruolo cruciale. Il medico deve considerare che, se lo scopo dell'innesto è un miglioramento estetico, il biomateriale ideale deve essere riassorbibile lentamente o non riassorbibile, per cui si prevede l'uso di un'alta percentuale di idrossiapatite. Al contrario, quando l'obiettivo del trattamento è ottenere tessuto osseo, l'ideale è utilizzare un materiale gradualmente riassorbibile. In terzo luogo, il medico deve considerare la preparazione da parte del produttore, per valutare la temperatura di sinterizzazione delle particelle ossee: una temperatura più elevata comporta un riassorbimento più difficoltoso. Infine, va considerata l'area che circonda la superficie dell'impianto. È sorprendente come possano variare i tassi di successo dei diversi impianti disponibili in commercio, nonostante il titanio puro commerciale sia il materiale primario degli impianti dentali. Sono stati studiati diversi fattori correlati all'impianto – come la topografia della superficie dell'impianto, la sua composizione chimica e la ruvidità della superficie – che influenzano l'osteointegrazione.

Oggi, la ruvidità di un biomateriale è considerata un parametro fondamentale del successo clinico. Nella loro valutazione, Le Guehenec e colleghi (2007) hanno concluso che la ruvidità della superficie migliora l'osteointegrazione degli impianti dentali.

In conclusione, il medico deve essere consapevole che la riuscita di una procedura di rigenerazione dipende dalla valutazione di tutti questi fattori nel corretto equilibrio.

1 – Aumento d'osso dopo fallimento di impianto



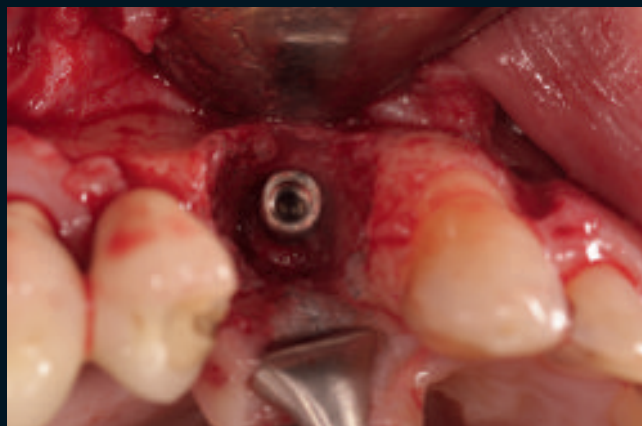
C1.1 Riabilitazione di impianto con un'asimmetria del contorno gengivale.



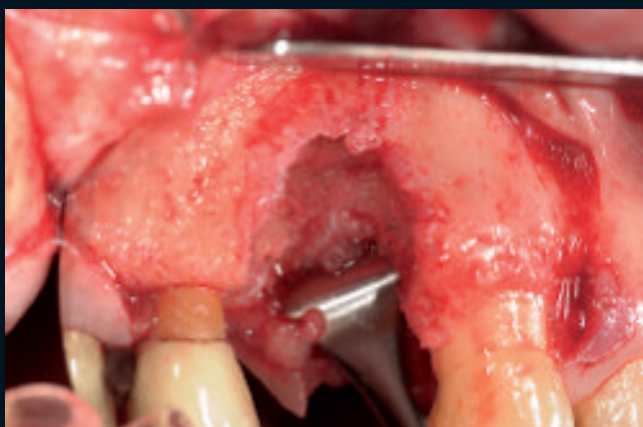
C1.2 Radiografia periapicale che mostra una perdita d'osso peri-impianto.



C1.3 Un lembo mucoperiosteale è stato sollevato e si è osservata una perdita d'osso peri-impianto in direzione verticale.



C1.4 Ampio difetto osseo orizzontale.



C1.5 L'impianto è stato rimosso ed è possibile valutare un difetto osseo residuo.



C1.6 Innesto di osso suino corticospongioso (visione oclusale).



C1.7 Innesto di osso suino corticospongioso (visione vestibolare).



C1.8 Chiusura primaria del tessuto molle con il posizionamento di una membrana di collagene.



C1.9 Guarigione del tessuto molle dopo 1 settimana (visione occlusale).



C1.10 Guarigione del tessuto molle dopo 3 settimane (visione occlusale).



C1.11 Guarigione del tessuto molle dopo 6 settimane (visione vestibolare).



C1.12 Radiografia periapicale che mostra la guarigione dell'osso dopo 4 mesi.

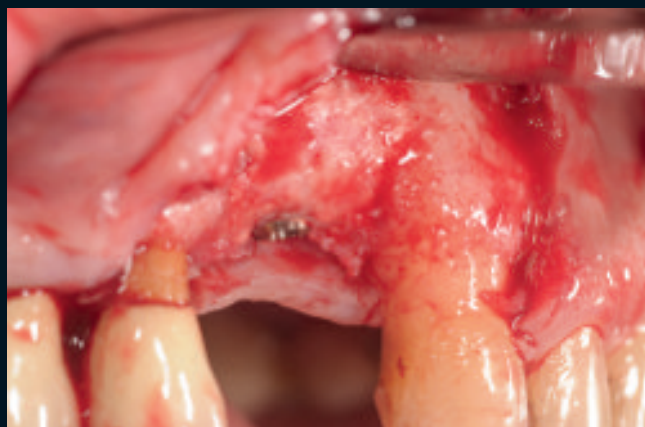




C1.13 Guarigione del tessuto molle dopo 6 mesi (visione vestibolare).



C1.14 Aumento d'osso dopo 6 mesi.



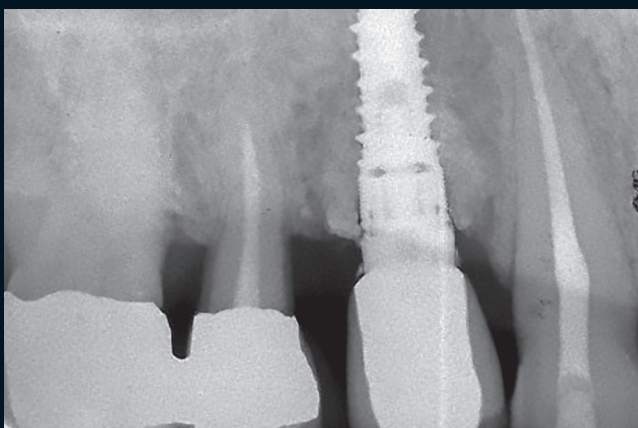
C1.15 Posizionamento di impianto nell'osso aumentato.



C1.16 Radiografia periapicale che mostra l'impianto inserito nell'osso aumentato.



C1.17 Restauro finale 1 anno dopo il posizionamento dell'impianto.



C1.18 Radiografia periapicale che mostra la guarigione dell'osso 1 anno dopo il posizionamento dell'impianto.

Lettere consigliate

- Aghaloo TL, Moy PK. Which hard tissue augmentation techniques are the most successful in furnishing bony support for implant placement? *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007;22:49-70.
- AlGhamdi AS, Shibly O, Ciancio SG. Osseous grafting part I: autografts and allografts for periodontal regeneration: a literature review. *J Int Acad Periodontol* 2010;12(2):34-38. Review.
- AlGhamdi AS, Shibly O, Ciancio SG. Osseous grafting part II: xenografts and alloplasts for periodontal regeneration: a literature review. *J Int Acad Periodontol* 2010;12(2):3944. Review.
- Baldini N, De Sanctis M, Ferrari M. Deproteinized bovine bone in periodontal and implant surgery. *Dent Mater* 2011;27(1):61-70.
- Barone A, Crespi R, Aldini NN et al. Maxillary sinus augmentation: histologic and histomorphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20:519-525.
- Calori GM, Mazza E, Colombo M, Ripamonti C. The use of bone-graft substitutes in large bone defects: any specific needs? *Injury* 2011;42 Suppl 2:56-63.
- Chappard C. Microarchitecture assessment of human trabecular bone: description of methods. *Med Sci (Paris)* 2012;28(12):1111-1115.
- Chen FM, Sun HH, Lu H, Yu Q. Stem cell delivery therapeutics for periodontal tissue regeneration. *Biomaterials* 2012;33(27):6320-6344.
- Clementini M, Morlupi A, Canullo L et al. Success rate of dental implants inserted in horizontal and vertical guided bone regenerated areas: a systematic review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2012;41(7):847-852.
- Del Fabbro M, Bortolin M, Taschieri S, Weinstein R. Is platelet concentrate advantageous for the surgical treatment of periodontal diseases? A systematic review and meta-analysis. *J Periodontol* 2011;82(8):1100-1111.
- Del Fabbro M, Testori T, Francetti L, Weinstein R. Systematic review of survival rates for implants placed in the grafted maxillary sinus. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2004;24:565-578.
- Duraine G, Hu J, Athanasoiu K. Bioengineering in the oral cavity: insights from articular cartilage tissue engineering. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011;26 Suppl:11-19; discussion 20-24. Review.
- Feldmeier JJ. Hyperbaric oxygen therapy and delayed radiation injuries (soft tissue and bony necrosis): 2012 update. *Undersea Hyperb Med* 2012;39(6):1121-1139. Review.
- Grabowski G, Cornett CA. Bone graft and bone graft substitutes in spine surgery: current concepts and controversies. *J Am Acad Orthop Surg* 2013;21(1):51-60.
- Hammouche S, Khan W et al. Calcium salts bone regeneration scaffolds: a review article. *Curr Stem Cell Res Ther* 2012;7(5):336-346. Review.
- Hosalkar HS, Pandya NK, Cho RH et al. Intramedullary nailing of pediatric femoral shaft fracture. *J Am Acad Orthop Surg* 2011;19(8):472-481.
- Lu HH, Subramony SD, Boushell MK, Zhang X. Tissue engineering strategies for the regeneration of orthopedic interfaces. *Ann Biomed Eng* 2010;38(6):2142-2154.
- Mafi P, Hindocha S, Mafi R, Khan WS. Evaluation of biological protein-based collagen scaffolds in cartilage and musculoskeletal tissue engineering: a systematic review of the literature. *Curr Stem Cell Res Ther* 2012;7(4):302-309. Review.
- Meyer C, Camponovo T, Euvrard E, Chatelain B. Membranes in pre-implantation surgery. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 2012;113(4):212-230.
- Monaco E, Bionaz M, Hollister SJ, Wheeler MB. Strategies for regeneration of the bone using porcine adult adipose-derived mesenchymal stem cells. *Therigenology* 2011;75(8):1381-1399.
- Mukerji SS, Parmar HA, Ibrahim M, Mukherji SK. Congenital malformations of the temporal bone. *Neuroimaging Clin N Am* 2011;21(3):603-619.
- Orsini G, Scarano A, Piattelli M et al. Histologic and ultrastructural analysis of regenerated bone in maxillary sinus augmentation using a porcine bone derived biomaterial. *J Periodontol* 2006;77:1984-1990.
- Ratcliffe A. The translation of product concept to bone products: a partnership of therapeutic effectiveness and commercialization. *Tissue Eng Part B Rev* 2011;17(6):443-447.
- Retzepi M, Donos N. Guided Bone Regeneration: biological principle and therapeutic applications. *Clin Oral Implants Res* 2010;21(6):567-576.
- Ruff CB, Garofalo E, Holmes MA. Interpreting skeletal growth in the past from a functional and physiological perspective. *Am J Phys Anthropol* 2013;150(1):29-37.
- Sedgley CM, Botero TM. Dental stem cells and their sources. *Dent Clin North Am* 2012 Jul;56(3):549-561.
- Tasoulis G, Yao SG, Fine JB. The maxillary sinus: challenges and treatments for implant placement. *Compend Contin Educ Dent* 2011;32(1):10-14, 16, 18-19; quiz 20, 34. Review.
- Wallace SS, Froum SJ. Effect of maxillary sinus augmentation on the survival of endosseous dental implants. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:328-343.
- Young E, Dabrowski M, Brelsford K. Osteoblastoma of the nasal septum. *J Laryngol Otol* 2011;125(10):1062-1066.

