

Indice

INTRODUZIONE	3
La guarigione della ferita parodontale	6
Fattori che influenzano la rigenerazione parodontale	10
<i>Fattori legati al paziente</i>	10
<i>Fattori legati al dente</i>	13
<i>Fattori legati al difetto</i>	14
Materiali utilizzati in chirurgia parodontale rigenerativa.....	17
<i>Rigenerazione tissutale guidata (GTR)</i>	17
<i>Innesti ossei ed alloplastici</i>	20
<i>Rigenerazione tissutale indotta (ITR)</i>	24
Tecniche chirurgiche.....	30
<i>Tecnica di preservazione della papilla</i>	30
<i>Tecnica modificata di conservazione della papilla</i>	31
<i>Tecnica semplificata di conservazione della papilla</i>	33
Protocollo post-operatorio	34
OBIETTIVO DELLO STUDIO:.....	36
<i>Primary outcome</i> :.....	36
<i>Consort statement</i> :.....	36
<i>Ipotesi nulla</i> :.....	37
MATERIALI E METODI	38
Disegno dello studio	38
Selezione dei pazienti:.....	39
Procedura sperimentale	40
<i>Misurazioni cliniche</i>	40
<i>Misurazioni chirurgiche</i>	40
<i>Procedura chirurgica</i>	41
ANALISI STATISTICA.....	42
DISCUSSIONE.....	47
CONCLUSIONI.....	52
TABELLE.....	53
ICONOGRAFIA.....	55
BIBLIOGRAFIA.....	59

INTRODUZIONE

La chirurgia parodontale rigenerativa comprende tutte le tecniche finalizzate al ripristino morfologico e funzionale dei tessuti di supporto del dente persi a causa della malattia parodontale (Garrett e coll. 1996).

In passato metodiche come lo scaling ed il root planing o il lembo di Widman modificato venivano erroneamente definite come “tecniche rigenerative” (Ramfjord e coll. 1974). In realtà queste procedure determinano una riduzione del sondaggio parodontale per un aumento della recessione gengivale e per la formazione, sulla superficie radicolare, di un epitelio giunzionale lungo che rappresenta una guarigione di tipo ripartivo e non rigenerativo.

Agli inizi degli anni 80 cominciò a divenire evidente la necessità di sviluppare procedure chirurgiche che potessero garantire la corretta *restitutio ad integrum* dei tessuti parodontali persi. In questo periodo iniziava a farsi strada il concetto che i

tessuti parodontali persi potevano essere in parte rigenerati utilizzando delle membrane-barriera non riassorbibili (politetrafluoroetilene espanso; e-PTFE) (Gottlow e coll. 1986). Sebbene questa metodica rigenerativa, denominata GTR (Rigenerazione Tissutale Guidata) desse risultati positivi in termini di riduzione della tasca e di guadagno di attacco clinico, tuttavia non era scevra da complicanze legate alla precoce esposizione della membrana e conseguente infezione batterica che ne derivava. La ricerca quindi si è orientata verso l'utilizzo di materiali riassorbibili come le membrane in collagene bovino o in acido polilattico-poliglicolico che anche in caso di esposizione non danno le stesse complicanze delle membrane in e-PTFE.

L'introduzione delle membrane riassorbibili ha rappresentato una ulteriore svolta nel campo della rigenerazione parodontale, semplificando le procedure chirurgiche e la gestione delle complicanze postoperatorie. Un ulteriore passo avanti nel campo delle metodiche rigenerative è stato fatto con l'introduzione dei fattori biologici (amelogenine) che stimolando specifici stipiti cellulari come i fibroblasti, gli osteoblasti ed i cementoblasti, inducono la formazione del nuovo attacco (ITR; rigenerazione tissutale indotta). Se da un lato la metodica rigenerativa (utilizzo di membrane, fattori biologici) sembra essere un punto chiave per il successo in terapia parodontale rigenerativa, d'altro non va sottovalutata la gestione chirurgica dei lembi.

L'elaborazione di lembi concepiti in maniera specifica per la rigenerazione parodontale rappresenta uno dei cambiamenti di maggior rilievo: la preservazione del tessuto molle a livello interdentale ed il corretto riposizionamento coronale del lembo hanno reso predicibile la guarigione per prima intenzione del sito operatorio e la stabilizzazione adeguata del coagulo e dei biomateriali (Takei HH e coll. 1985, Cortellini et al 1995, Cortellini et al 1999). Una più corretta gestione dei tessuti molli e l'attenta preservazione del tessuto interdentale hanno inoltre ridotto sensibilmente la prevalenza dell'esposizione delle membrane, considerata come la principale complicanza delle procedure rigenerative parodontali con membrane non riassorbibili. La sempre più accurata comprensione dei meccanismi biologici legati alla guarigione della ferita parodontale (Ramseier CA e coll. 2011) e l'importanza della stabilità del coagulo ematico hanno dato l'impulso all'introduzione delle ultime metodiche mini-invasive che permettono di ottenere la rigenerazione del legamento parodontale, sfruttando il più possibile le capacità rigenerative dell'organismo stesso (Wachtel H.e coll. 2003, Trombelli e coll. 2009, Cortellini e coll 2011).

La guarigione della ferita parodontale

Durante i processi di guarigione della ferita parodontale, le linee cellulari in grado di ripopolare potenzialmente il difetto sono rappresentate dalle cellule epiteliali, dalle cellule del tessuto connettivale gengivale, dalle cellule del tessuto osseo e dalle cellule del legamento parodontale. Le cellule epiteliali migrano molto rapidamente in direzione apicale lungo la superficie radicolare, determinando una guarigione istologica del difetto mediante formazione di un epitelio giunzionale lungo che impedisce una completa *“restituito ad integrum”* dei tessuti parodontali (Caton e Nyman 1980). Istologicamente quindi avremo la formazione di un attacco epiteliale lungo. (Oates et al 2001).

Sulla base di queste evidenze si sono sviluppate procedure di rigenerazione dei tessuti parodontali, il cui fondamento è legato all'utilizzo di una membrana-barriera finalizzata a ostacolare la colonizzazione della superficie radicolare da parte delle cellule epiteliali.

Nei primi anni '80, fu introdotto l'utilizzo di una barriera in Gore che consentiva alle cellule del legamento parodontale e agli osteoblasti di colonizzare il coagulo isolando ed escludendo selettivamente l'epitelio ed il connettivo gengivale (Gottlow e

coll.1984). Studi istologici hanno dimostrato l'efficacia di questa metodica nel consentire la rigenerazione di un nuovo apparato di attacco con fibre connettivali orientate funzionalmente e inserite nel cemento radicolare e nell'osso alveolare neoformati (Gottlow e coll. 1986).

Affinché possa essere utilizzata efficacemente come barriera, una membrana deve rispondere ad alcuni essenziali criteri biologici.

Biocompatibilità.

Il materiale non dovrebbe indurre reazioni immunitarie, sensibilizzazioni o infiammazioni croniche in grado di interferire con il processo di guarigione e sottoporre a rischio il paziente.

Effetto barriera.

Il materiale deve comportarsi come una membrana semipermeabile, consentendo la vascolarizzazione del sito operatorio e la nutrizione del lembo sovrastante, e allo stesso tempo impedendo la colonizzazione del coagulo da parte delle cellule epiteliali e del connettivo gengivale.

Lo space making.

Rappresenta la capacità della membrana di preservare in maniera stabile nel tempo uno spazio adeguato per il coagulo ematico a ridosso della superficie radicolare, consentendone la colonizzazione da parte delle cellule del legamento parodontale.

Alcuni materiali presentano caratteristiche strutturali insufficienti a garantire un simile requisito, tendendo a collassare all'interno del difetto, mentre altri presentano una tale rigidità da poter perforare il tessuto molle sovrastante.

Maneggevolezza e versatilità.

La membrana dovrebbe risultare di facile gestione clinica per l'operatore, in termini di modellazione ed applicazione. Le membrane, in base al materiale con cui sono state costruite, possono essere non riassorbibili oppure riassorbibili.

La maggiore comprensione dei meccanismi biologici legati alla guarigione della ferita parodontale e alla rigenerazione dei tessuti di supporto ha consentito un'ulteriore evoluzione delle procedure rigenerative. A partire dalla metà degli anni 90 Heijl e collaboratori hanno presentato un nuovo principio biologico per ottenere la rigenerazione dei tessuti parodontali, non più guidandola fisicamente mediante

l'utilizzo di una membrana, ma inducendola biologicamente attraverso l'uso di mediatori chimici bioattivi (ITR) (Heijl e coll. 1997).

Le sostanze sperimentate in letteratura per ottenere la rigenerazione biologicamente indotta possono essere i fattori di crescita come il PDGF (Platelet-Derived Growth Factor), IGF (Insuline Growth factor) e le BMPs (Bone Morphogenetic Proteins) oppure i fattori biologici come la fibronectina o l'amelogenina. Tra tutte l'amelogenina è quella che ha dato i migliori risultati sia in termini di guadagno di attacco clinico che in termini di riduzione della tasca parodontale, se però utilizzata in specifiche condizioni cliniche (difetti intraossei a tre pareti) (Tonetti et al 2002). Si tratta di una proteina derivata dalla matrice adamantina suina che determina la formazione di cemento acellulare e di nuovo attacco. Se da un lato sembra avere tutte le caratteristiche ottimali per indurre la rigenerazione parodontale, dall'altro è da sottolineare il fatto che la sua natura fisica (sostanza viscosa) la rende inutilizzabile nei difetti non contenitivi (difetti a 1 parete). Per questo motivo numerosi autori (Sculean et al 2008, Cortellini et al 2011) hanno proposto l'associazione dell'amelogenina con un biomateriale (es. osso bovino deproteinizzato) che funga da supporto nei difetti intraossei non contenitivi.

Fattori che influenzano la rigenerazione parodontale

Il successo della terapia parodontale rigenerativa è strettamente legato ad una serie di fattori che possono essere correlati al paziente, al dente ed al difetto che intendiamo trattare.

Se da un lato la rigenerazione guidata dei tessuti parodontali è in grado di modificare la prognosi di un elemento dentario affetto da malattia parodontale, è altrettanto vero che risultati clinici ottimali e predicibili possono essere raggiunti solo dopo un'attenta analisi del paziente e una rigida selezione dei soggetti candidati a simili procedure chirurgiche.

Fattori legati al paziente

Il paziente candidato a una procedura parodontale rigenerativa deve aver ben compreso la necessità di raggiungere elevati standard di controllo microbiologico della placca muco- batterica e di quei co-fattori legati a una riduzione del successo clinico della terapia rigenerativa. Da questo punto di vista, è compito del clinico valutare durante il corso della terapia causale la possibilità di eliminare eventuali condizioni patologiche e di modificare le abitudini scorrette del paziente, migliorandone gli stili di

vita. I fattori di rischio da modificare, a livello del paziente, sono le patologie sistemiche (diabete), il fumo, la quantità di placca muco batterica presente e l'infiammazione dei tessuti parodontali.

Un fattore correlato all'insuccesso delle procedure di GTR è rappresentato dal diabete non controllato. E' stato infatti dimostrato che il diabete scompensato aumenta la probabilità di sviluppo e progressione della malattia parodontale (Tervonen & Oliver 1993) ed influenza negativamente l'esito della terapia (Papapanou e coll. 1996). Viceversa, in uno studio condotto da Kats e collaboratori, è stato dimostrato che il paziente con diabete compensato (assenza di glicosuria, glicemia <120 mg/dl, HbA1c < 8%) risponde alla terapia parodontale come un paziente sano (Katz e coll. 2001). Il fumo rappresenta sicuramente un fattore di rischio da correggere, in quanto studi clinici controllati e randomizzati hanno dimostrato che un paziente fumatore (> 10 sigarette/die) ha scarse possibilità di ottenere una completa rigenerazione dei tessuti parodontali. In un RCT condotto da Tonetti e collaboratori su 39 difetti intraossei trattati con membrana in e-PTFE rinforzata in titanio, è stato osservato, nei pazienti non fumatori, un guadagno di attacco clinico di 5.2 ± 0.2 mm ed un riempimento radiografico del difetto dell' $81 \pm 3.0\%$, mentre nei pazienti fumatori (> 10 sigarette/die) il guadagno di attacco clinico è stato di 2.1 ± 1.2 mm e la percentuale di riempimento

radiografica del difetto è stata del $51\pm 6.8\%$ (Tonetti e coll 1995).. Successivi studi clinici controllati e randomizzati (Cortellini et coll 2001, Tonetti e coll. 2002) hanno valutato l'effetto del fumo associato alla guarigione di altre metodiche rigenerative, come la GTR con membrane riassorbibili supportate da osso bovino deproteinizzato e la rigenerazione tissutale indotta (amelogenine). In entrambi i casi è stata riscontrata una guarigione sfavorevole nei pazienti fumatori (ODDS Ratio :0.26 per la GTR e 0.30 per la ITR). Altri due fattori di rischio da controllare per ottenere il successo in terapia rigenerativa sono le percentuali di placca muco-batterica e la percentuale di sanguinamento. Per ottenere un guadagno di attacco clinico di almeno 4 mm, infatti, il FMPS (full mouth plaque score) ed il FMBS (full mouth bleeding score) devono essere inferiori al 15% (considerando quattro siti per dente). Tonetti e collaboratori, in una serie di studi clinici hanno infatti dimostrato che il paziente con un FMPS ed un FMBS $\leq 15\%$ ha circa il 10% di possibilità in più di ottenere un guadagno di attacco clinico maggiore di 3 mm (Tonetti e coll 1993, Tonetti e coll 1996, Tonetti e coll 2002, Tonetti e coll. 2004).

In sintesi quindi, il paziente candidato alla terapia rigenerativa deve essere un paziente non fumatore (< 10 sigarette / die) e con un FMPS ed un FMBS $\leq 15\%$.

Fattori legati al dente

Tra i fattori legati al dente, bisogna considerare l'iper mobilità, la vitalità dentaria e la presenza di forcazioni coinvolte dalla parodontite. In letteratura scientifica, non vi sono evidenze che dimostrino una relazione tra iper mobilità dentaria ed insuccesso della terapia parodontale rigenerativa, tuttavia, è buona norma splintare gli elementi dentari iper mobili per facilitare la procedura chirurgica. Per quanto riguarda la vitalità del dente da trattare con tecnica rigenerativa è sempre bene preservarla, a meno che il difetto intraosseo non raggiunga l'apice. In uno studio clinico di Cortellini e collaboratori non si è osservata nessuna differenza statisticamente significativa tra i denti trattati endodonticamente e quelli non trattati endodonticamente per quanto riguarda il guadagno di attacco clinico, la riduzione di tasca e la diminuzione dell'iper mobilità, dopo terapia rigenerativa con membrane riassorbibili supportate da osso bovino deproteinizzato (Cortellini e coll. 2001). Un altro fattore legato al dente è rappresentato dal coinvolgimento delle forcazioni degli elementi dei settori posteriori. La terapia rigenerativa, infatti, ha dato risultati favorevoli solo per le forche di seconda classe dei molari inferiori (Kinala BM e coll 2011), mentre per le forche di seconda classe dei molari superiori e per le forche di terza classe, è indicata la terapia resettiva o di mantenimento (Carnevale et al 2010).

Fattori legati al difetto

La morfologia del difetto intraosseo che intendiamo trattare riveste, senza dubbio, un ruolo chiave nel processo di guarigione nell'ambito delle procedure di rigenerazione parodontale. La morfologia dei difetti intraossei è solitamente definita sulla base dei seguenti parametri:

- profondità
- ampiezza
- numero di pareti ossee residue

Studi clinici hanno dimostrato come maggiore è la profondità del difetto intraosseo alla baseline, maggiore è il guadagno di attacco clinico in termini millimetrici. Tuttavia è corretto sottolineare come il potenziale rigenerativo non sia correlato alla profondità del difetto, infatti, in termini percentuali le variazioni del livello di attacco clinico tra il baseline e il post-chirurgico nei difetti intraossei profondi ($76,7 \pm 27,7\%$) e nei difetti poco profondi ($75,8 \pm 45\%$) sono sovrapponibili (Cortellini e coll 2005).

Un altro parametro morfologico fondamentale è rappresentato dall'ampiezza della componente infraossea del difetto.

La sua valutazione viene eseguita radiograficamente, misurando l'angolo formato tra la retta tangente alla parete ossea del difetto e quella parallela all'asse maggiore del dente: questo parametro è noto come angolo radiografico. I dati presenti in letteratura suggeriscono un ridotto guadagno di attacco clinico e di riempimento osseo del difetto, a distanza di 12 mesi, in siti con un angolo radiografico ampio.

Tsitoura e collaboratori hanno osservato come difetti intraossei con angolo radiografico uguale o inferiore ai 25° presentassero valori di CAL post-terapia mediamente superiori di 1.5 mm rispetto a difetti con angolo radiografico uguale o superiore ai 37° (Tsitoura e coll 2004). Questi dati suggeriscono la necessità di comprendere adeguatamente la morfologia del difetto in fase di programmazione, al fine di selezionare la procedura chirurgica più adeguata ad esso.

Il terzo parametro morfologico per la valutazione dei difetti intraossei è costituito dal numero delle pareti residue. La sua corretta valutazione passa attraverso l'integrazione delle informazioni derivanti dall'analisi clinica del difetto (sondaggio differenziale) con quelle rilevabili da radiografie endorali eseguite con la tecnica dei raggi paralleli. I difetti intraossei possono essere classificati in 1, 2 o 3 pareti e solo

durante la fase intrachirurgica, dopo l'asportazione del tessuto di granulazione, si può realmente apprezzare il numero delle pareti del difetto.

Nella realtà clinica però, non esistono difetti "puri", ma molto spesso procedendo in direzione corono-apicale il numero di pareti ossee può variare e spesso la porzione più coronale del difetto ha una sola parete mentre quella più apicale è a due o tre pareti.

Ovviamente un difetto contenitivo (3 pareti), garantisce una migliore stabilità del coagulo rispetto ad un difetto non contenitivo (1-2 pareti), ed ha quindi una prognosi più favorevole.

Materiali utilizzati in chirurgia parodontale rigenerativa

Rigenerazione tissutale guidata (GTR)

Le membrane sono il dispositivo fondamentale per la rigenerazione guidata dei tessuti, e possono essere costituite, le non riassorbibili da politetrafluoroetilene espanso (e-PTFE), e le riassorbibili da collagene, acido polilattico e acido poliglicolico.

Membrane non riassorbibili

Il politetrafluoroetilene espanso (e-PTFE) è sicuramente il materiale maggiormente utilizzato nell'ambito delle membrane non riassorbibili. La molecola di base dell'e-PTFE consiste in un legame carbonio-carbonio con fissaggio di quattro atomi di fluoro a formare un polimero con valori di microporosità variabili tra il 60% e l'80%. Queste caratteristiche rendono l'e-PTFE un materiale biologicamente inerte a permeabilità selettiva.

L'ampio utilizzo che nel corso degli anni è stato fatto di questa tipologia di membrana dipende dalle elevate proprietà di space-making e dall'ottimo controllo dell'effetto barriera nel tempo, per l'assenza del processo di riassorbimento della membrana.

Tuttavia, l'impiego di membrane non riassorbibili, nelle procedure di GTR, si è significativamente ridimensionato in virtù della necessità di una seconda fase chirurgica per la loro rimozione, di una elevata esperienza chirurgica dell'operatore nella gestione della membrana e dei lembi chirurgici, nonché delle frequenti complicanze postoperatorie rappresentate per lo più dall'esposizione prematura della membrana.

Membrane riassorbibili

Questo tipo di membrane può essere costituito da polimeri sintetici o da collagene. Nel primo caso i materiali solitamente utilizzati sono l'acido polilattico (PLA), l'acido poliglicolico (PLG) o co-polimeri di acido polilattico e poliglicolico. Tali membrane vengono degradate per idrolisi all'interno del ciclo di Krebs con produzione di anidride carbonica e acqua. Il collagene di derivazione bovina o suina è un materiale molto utilizzato nella fabbricazione delle membrane riassorbibili, dal momento che costituisce fino al 50% delle proteine del corpo umano ed è quindi ben tollerato, esse vengono, degradate dall'azione enzimatica dei macrofagi e dei leucociti polimorfo

nucleati. Le membrane riassorbibili possiedono diverse caratteristiche peculiari in grado di influenzare positivamente il processo di rigenerazione del difetto parodontale, come la rapida stabilizzazione del coagulo, la stimolazione dell'angiogenesi, la proprietà chemiotattica nei confronti dei fibroblasti e la struttura semipermeabile, che permette il passaggio di sostanze nutrienti.

La rapida biodegradazione delle membrane riassorbibili può portare a una sensibile alterazione della durata nel tempo dell'effetto barriera, compromettendo l'esito della procedura rigenerativa. Un aspetto negativo di queste membrane è legato al fatto che esse, non essendo rigide, hanno uno scarso effetto space-making se utilizzate per i difetti intraossei non contenitivi (difetti ad 1 parete) o per i difetti contenitivi larghi, dal momento che tendono a collassare all'interno del difetto. Pertanto in questo tipo di difetti intraossei le membrane riassorbibili necessitano di un innesto osseo che le sostenga.

Nella maggior parte delle applicazioni cliniche le membrane riassorbibili hanno sostituito quelle non riassorbibili proprio per i loro numerosi vantaggi, che spaziano dal fatto di non necessitare di una seconda chirurgia per la loro rimozione e al minore rischio di complicanze (esposizione).

Riassorbibili vs non riassorbibili

In virtù delle differenti caratteristiche fisiche, chimiche e biologiche entrambe le tipologie di membrane possiedono vantaggi e svantaggi, che devono essere considerati dal clinico per poter scegliere la membrana ideale alla risoluzione del singolo caso.

In definitiva una membrana riassorbibile risulta essere, unitamente a una struttura di sostegno che funga da supporto alla stabilità del coagulo (innesto), una scelta di elezione per la maggior parte dei difetti parodontali intraossei, dove il tempo di riassorbimento, sia per membrane in acido polilattico/poliglicolico che per quelle in collagene, è sufficiente a promuovere la rigenerazione parodontale. Invece una membrana non riassorbibile risulta più adatta a tecniche di rigenerazione ossea guidata (GBR) o alla gestione di difetti molto ampi, che necessitino di maggiore timing rigenerativo o grande stabilità a discapito di rischi legati all'esposizione delle membrane stesse.

Innesti ossei ed alloplastici

Gli innesti ossei ed alloplastici vengono utilizzati in terapia parodontale rigenerativa prevalentemente come supporto per stabilizzare il coagulo, e per permettere alle

membrane riassorbibili di non collassare nel difetto. Infatti è stato ampiamente dimostrato, con studi istologici nell'uomo, che hanno un basso potenziale rigenerativo ed inducono per lo più una guarigione di tipo ripartivo (Hiatt e coll 1978, Bower e coll 1989).

Hanno tutti un'azione osteoconduttiva, in alcuni casi anche osteogenetica ed osteoinduttiva.

L'azione osteoconduttiva, propria di tutti questi materiali, è rappresentata dalla funzione di supporto al coagulo ed alla proliferazione delle cellule osteoformatrici. Per "osteoinduzione" si intende la capacità di stimolare il differenziamento delle cellule mesenchimali attraverso proteine bioattive presenti nel materiale da innesto (innesti omologhi ed autologhi), mentre l'osteogenesi è il processo attraverso il quale gli osteoblasti vitali presenti nell'innesto formano nuovo osso ed è proprio dell'osso autologo.

Osso autologo

L'utilizzo di un innesto autologo prevede il prelievo da una sede intraorale o extraorale di tessuto osseo da un individuo che rappresenta al contempo sia il donatore che il ricevente. L'osso autologo si distingue per le caratteristiche

osteogenetiche dovute alla presenza di fattori di crescita intrinseci e di osteoblasti, presenta, inoltre, l'indiscutibile vantaggio dell'assenza di problemi di compatibilità.

Per contro, le difficoltà legate al reperimento di una quantità di tessuto osseo sufficiente in corrispondenza del sito chirurgico, di frequente rendono necessaria l'esecuzione di un ulteriore intervento chirurgico in un sito differente, per il prelievo di una quantità idonea di tessuto da innestare, con un aumento della morbilità per il paziente. Una caratteristica di questo tipo di innesto è quella di riassorbirsi in tempi molto brevi e questo lo rende indicato in alcune situazioni cliniche e non indicato in altri casi, quando è necessario un effetto "scaffold" prolungato nel tempo.

Osso omologo

Con osso omologo si intende tessuto osseo proveniente da individui della stessa specie del ricevente. Solitamente viene prelevato da cadavere, entro 24 ore dal decesso, oppure nel contesto di altri interventi chirurgici. L'osso viene raccolto in banche biologiche e conservato in forma semplicemente congelata, congelata e liofilizzata, oppure congelato liofilizzato e decalcificato. La diffusione dell'utilizzo dell'osso di

banca è un fenomeno piuttosto recente in Europa, solitamente riservato a importanti interventi chirurgici di ricostruzione mascellare e mandibolare.

La capacità osteoinduttiva di questo tipo di innesto può variare in virtù della sede di prelievo e della modalità di conservazione del prelievo stesso. Bowers e collaboratori hanno dimostrato la neoformazione di legamento parodontale in difetti intraossei trattati con procedure rigenerative e innesto di tessuto osseo omologo (Bowers e coll 1989).

Osso xenologo

L'osso xenologo proviene da specie diverse da quella del ricevente. L'inibizione delle proprietà immunogene di questa tipologia di innesto osseo viene solitamente ottenuta privandolo della componente proteica. L'innesto xenologo più utilizzato e che dispone di una ampissima letteratura a riguardo è senza dubbio l'osso bovino deproteinizzato; possiede un'ottima capacità osteoconduttiva oltre alla tendenza a riassorbirsi molto lentamente nel tempo, rimanendo a lungo nel sito di innesto. Quest'ultima peculiarità risulta di grande interesse clinico, poiché permette di mantenere il volume ricreato con la terapia rigenerativa anche a distanza di molto tempo dalla fase chirurgica.

Osso alloplastico

L'osso alloplastico è un materiale di origine sintetica o di derivazione naturale, con proprietà osteoconduttive. Commercializzato in blocchi o in particelle di differenti granulometrie, può essere sia riassorbibile che non riassorbibile e risulta privo di complicanze legate a problemi di biocompatibilità, ma ha scarso potere rigenerativo.

Rigenerazione tissutale indotta (ITR)

Lo scopo dei fattori biologici e dei fattori di crescita applicati al campo della rigenerazione parodontale è quello di promuovere la guarigione della ferita stimolando la differenziazione delle cellule mesenchimali indifferenziate in cellule del legamento parodontale.

Proteine della matrice dello smalto (EMD)

L'EMD (*Enamel matrix Derivative*) è stato il primo biomateriale introdotto nella terapia rigenerativa parodontale ad avere un'azione "biomimetica", in quanto costituito da

fattori biologici (proteine della matrice) secreti durante l'embriogenesi dei tessuti dentali rappresentati dalle amelogenine (Bosshardt e coll. 2008, Rasperini e coll.2000).

L'EMD è costituito da un gel viscoso a basso pH che agisce da mezzo veicolante per le amelogenine che sono idrorepellenti. In virtù dell'azione dei sistemi tampone tissutali, la soluzione veicolante viene neutralizzata nel momento in cui l'EMD viene posizionato nel contesto della ferita parodontale, rendendo così le amelogenine insolubili e determinandone la precipitazione sulla superficie radicolare. Quest'ultima deve essere adeguatamente condizionata perché le amelogenine possano formare dei legami stabili. Il protocollo di condizionamento radicolare proposto da Blomlof prevede l'uso di EDTA al 24% per 2 minuti seguito da irrigazione per 20 secondi con soluzione salina sterile (Blomlof e coll.1997). Studi clinici e istologici dimostrano la capacità dell'EMD di indurre la neoformazione di cemento acellulare e di legamento parodontale (Bosshardt e coll.2008). Le cellule aspecifiche del legamento, in presenza del gel di amelogenine, tendono a cambiare la propria morfologia in cementoblasti ed in fibroblasti parodontali, favorendo la formazione di nuovo tessuto di supporto. I dati pubblicati in letteratura sottolineano l'efficacia delle amelogenine nella terapia rigenerativa parodontale con risultati clinici sovrapponibili a quanto è possibile ottenere mediante

l'utilizzo di membrane, in difetti contenitivi, in termini sia di guadagno di CAL che di riempimento radiografico del difetto.

Infine l'utilizzo delle amelogenine è associato a una ridotta incidenza di complicanze postoperatorie rispetto ai tradizionali protocolli di GTR (Esposito e coll. 2009, Sanz e coll. 2004).

Associazione EMD+ Innesti ossei

Uno dei limiti all'efficacia delle amelogenine è rappresentato dalla ridotta capacità dell'EMD di fungere da space-maker. Per ovviare a questa problematica sono stati effettuati molti studi che prevedevano l'associazione tra amelogenine ed innesti ossei di varia natura.

Lekovic e coll. hanno incluso nel loro studio 21 pazienti trattati, in maniera random mediante spit-mouth, con amelogenina e con associazione tra amelogenina (EMD) e minerale osseo poroso di origine bovina (DBBM). Dopo 6 mesi di follow-up i difetti vennero sondati e venne effettuato il rientro chirurgico. I siti trattati con EMD+DBBM mostravano una riduzione del PD (3.43 ± 1.32 mm sui versanti vestibolari e 3.36 ± 1.35 mm sui versanti linguali) significativamente maggiore rispetto ai siti trattati

con EMD ($1.91\pm 1.42\text{mm}$ sui versanti vestibolari e $1.85\pm 1.38\text{mm}$ sui versanti linguali). Il gruppo EMD/DBBM presentava anche un guadagno di attacco clinico maggiore ($3.13\pm 1.41\text{mm}$ sui versanti vestibolari e $3.11\pm 1.39\text{mm}$ sui versanti linguali) rispetto al gruppo EMD ($1.72\pm 1.33\text{mm}$ sui versanti vestibolari e $1.75\pm 1.37\text{mm}$ sui versanti linguali). Questi dati clinici erano confermati al momento del rientro chirurgico, infatti, nel gruppo EMD/DBBM il riempimento del difetto era maggiore ($3.82\pm 1.43\text{mm}$ nei siti vestibolari e $3.74\pm 1.38\text{mm}$ nei siti linguali) di quanto non fosse nel gruppo trattato con le sole EMD ($1.33\pm 1.17\text{mm}$ nei siti vestibolari e $1.41\pm 1.19\text{mm}$ nei siti linguali). Un limite importante di questo studio è che non viene menzionato il numero delle pareti dei difetti (Leikovic e coll. 2000).

Analogamente, Camargo e collaboratori hanno confrontato, mediante uno studio split-mouth, l'associazione tra EMD e DBBM con l'OFD in 24 difetti intraossei a tre e due pareti. Dopo 6 mesi di follow-up i difetti vennero sondati e venne effettuato il rientro chirurgico. I difetti del gruppo test presentavano una riduzione del PD significativamente maggiore (differenza media tra gruppo test e gruppo controllo 2.35 ± 0.86 nei siti vestibolari e $2.28\pm 0.90\text{mm}$ nei siti linguali) ed un maggior guadagno di CAL (differenza media tra gruppo test e gruppo controllo $2.04\pm 0.28\text{mm}$ nei siti vestibolari e 1.99 ± 0.26 nei siti linguali) rispetto ai difetti del gruppo controllo. Al

rientro chirurgico il grado di riempimento dei difetti del gruppo test era significativamente maggiore di quello del gruppo controllo (differenza media tra gruppo test e gruppo controllo 2.85 ± 0.28 mm nei siti vestibolari e 2.67 ± 0.33 mm nei siti linguali). Anche in questo studio purtroppo non è stata fatta una analisi statistica differenziata in base alla morfologia del difetto dal momento che sono stati mischiati i difetti a tre e due pareti (Camargo e coll. 2001).

In uno studio split-mouth controllato, che ha coinvolto 17 pazienti, Scheyer e coll. hanno confrontato l'associazione tra EMD e un derivato di osso bovino (DBBM) con il solo DBBM. Le misurazioni effettuate dopo 6 mesi di follow-up non hanno dimostrato differenze significative tra i 2 gruppi (riduzione media del PD di 4.2 ± 1.1 mm per il gruppo test e di 3.9 ± 1.3 mm per il gruppo controllo; guadagno medio di CAL 3.8 ± 0.9 mm per il gruppo test e 3.7 ± 1.5 mm per il gruppo controllo). Anche l'analisi del riempimento osseo, effettuata al momento del rientro chirurgico, non ha dimostrato differenze significative tra i due gruppi (percentuale di riempimento osseo (%BF) di $63.3 \pm 16.3\%$ e $67.0 \pm 19.0\%$ rispettivamente per il gruppo test e il gruppo controllo). Anche in questo studio non è chiara la morfologia dei difetti trattati (Sheyer et al 2002)

Sculean e collaboratori hanno confrontato l'associazione tra EMD e DBBM (Bio-Oss) e solo DBBM arruolando 24 pazienti con difetti intraossei contenitivi (non viene menzionato il numero delle pareti) che sono stati assegnati casualmente al gruppo test (EMD + DBBM) o al gruppo controllo (DBBM). Dopo un anno di follow-up i siti del gruppo test mostravano una riduzione del PPD medio (da 10.0 ± 1.5 mm a 4.3 ± 1.4 mm) mentre il CAL passava da 10.9 ± 2.0 mm a 6.2 ± 1.9 mm ($P < 0.0001$). Nel gruppo controllo, il PPD si era ridotto da 9.7 ± 2.4 mm a 3.2 ± 0.7 mm e il CAL da 10.1 ± 2.3 mm a 5.2 ± 1.2 mm ($P < 0.0001$). Le differenze rilevate tra il gruppo test e il gruppo controllo non erano significative (Sculean et al 2008).

In uno studio clinico controllato randomizzato condotto da Cortellini e Tonetti, sono stati trattati con tecnica mini invasiva modificata (m-MIST) 45 difetti intraossei a tre, due ed una parete. Dei 45 difetti, 15 sono stati trattati con una associazione di amelogenina e DBBM, 15 con la sola amelogenina e 15 senza alcuna tecnica rigenerativa (solo lembo m-MIST). Dopo 12 mesi di follow-up il guadagno di attacco clinico è stato di 3.7 ± 1.3 mm per i difetti trattati con l'associazione amelogenina e DBBM, di 4.1 ± 1.2 mm per i difetti trattati solo con l'amelogenina e di 4.1 ± 1.4 mm per i difetti trattati solo con la tecnica m-MIST (Cortellini et al 2011). Gli autori non riportano i dati in base al numero delle pareti del difetto e non chiariscono come

l'associazione tra amelogenina e DBBM possa dare dei risultati inferiori all'utilizzo della sola amelogenina e addirittura all'utilizzo della sola tecnica m-MIST.

In tutti gli studi presenti in letteratura sull'associazione tra amelogenine ed innesto osseo non è stata chiarita sufficientemente la morfologia del difetto.

Tecniche chirurgiche

Tecnica di preservazione della papilla

Introdotta da Takei nel 1985, questa tecnica rappresenta il primo tentativo di sviluppare una procedura chirurgica in grado di preservare il tessuto interdentale e di garantire una adeguata chiusura del sito chirurgico. L'accesso al difetto intraosseo avviene attraverso un'incisione orizzontale, linguale o palatale, alla base della papilla estesa in senso mesio-distale rispetto al difetto da trattare, e la papilla interdentale viene conservata nel contesto del lembo vestibolare. Una volta esposto il difetto intraosseo, l'accessibilità e le procedure di degranulazione e detartrasi possono essere ulteriormente facilitate eseguendo delle incisioni di rilascio verticali a livello del lembo vestibolare. La decisione di includere nel lembo vestibolare il tessuto interdentale, sebbene trovi una giustificazione sul piano estetico, evitando la formazione di cicatrici

visibili alla base della papilla, ne rappresenta al contempo il limite. Il cambiamento dei volumi a livello interprossimale a seguito di procedure rigenerative legato alla presenza di biomateriali e membrane deve essere considerato e adeguatamente gestito con l'avanzamento coronale dei lembi per ottenere la chiusura della ferita.

A tal proposito la tecnica di Takei risulta di difficile gestione per l'impossibilità di avanzare coronalmente sia il lembo vestibolare, senza modificare la posizione assiale della papilla, sia il lembo palatale, che è aderente.

Tecnica modificata di conservazione della papilla

L'introduzione della MPPT (*Modified Papilla Preservation Technique*) da parte di Cortellini e collaboratori (1995) nasce dall'esigenza di ottenere e mantenere nel tempo una chiusura per prima intenzione del lembo a livello dello spazio interdentale al di sopra della membrana. L'accesso al difetto intraosseo si ottiene eseguendo un'incisione orizzontale alla base della papilla interdentale sul lato vestibolare, incisione che si estende a livello intrasulcolare tanto sul lato mesiale che su quello distale del difetto stesso. Il lembo vestibolare viene successivamente scollato a tutto

spessore, mentre il tessuto interdentale viene conservato nel contesto della porzione palatale/linguale del lembo, anch'essa sollevata a spessore totale.

La corretta esecuzione della MPPT prevede, pertanto, uno spazio interdentale sufficientemente ampio, superiore a 2,5 mm, per poter consentire il ribaltamento sul lato palatale della papilla.

Una volta esposto il difetto intraosseo, l'accessibilità e le procedure di degranulazione e detartrasi possono essere ulteriormente facilitate eseguendo delle incisioni di rilascio verticali nel lembo vestibolare. Attraverso la MPPT, la variazione volumetrica a livello del sito chirurgico, determinata dal posizionamento di una membrana e di un eventuale materiale da innesto, può essere facilmente compensata attraverso l'avanzamento coronale del lembo vestibolare, ottenendo al contempo una adeguata chiusura primaria dell'area interdentale. La tecnica proposta da Takei, invece, non permetteva un controllo ottimale della chiusura del sito chirurgico in quanto il tessuto interdentale veniva conservato nel contesto del lembo vestibolare e l'avanzamento coronale del lembo palatale/linguale risultava di difficile gestione clinica.

Cortellini e collaboratori nel 1995 hanno ottenuto risultati clinici migliori in termini di livello di attacco al sondaggio (CAL) con la MPPT ($5,3 \pm 2,2$ mm) se paragonati a quelli

ottenuti con metodiche quali il lembo di accesso ($2,5 \pm 0,8$ mm) e tecniche di GTR tradizionali ($4,1 \pm 1,9$ mm). Sebbene questa procedura chirurgica sia stata introdotta per l'utilizzo in associazione con membrane non riassorbibili rinforzate in titanio, risultati clinici soddisfacenti sono stati raggiunti anche utilizzando membrane riassorbibili (CAL $4,5 \pm 1,2$ mm)¹⁴ La MPPT può essere eseguita in associazione con differenti biomateriali quali l'EMD o innesti ossei sostitutivi. È importante sottolineare come il raggiungimento della chiusura per prima intenzione a livello interdentale sia strettamente dipendente non solo dal disegno del lembo, ma anche dalla tecnica di sutura utilizzata.

Tecnica semplificata di conservazione della papilla

La SPPT (*Simplified Papilla Preservation Technique*) è stata sviluppata nel tentativo di ovviare ad alcuni dei limiti clinici della MPPT, rappresentati per lo più dalla difficile applicazione negli spazi interdentali ridotti e nelle regioni posteriori.

La tecnica semplificata di preservazione della papilla prevede l'esecuzione di un'incisione obliqua a livello dello spazio interdentale, mantenendo la lama del bisturi parallela all'asse maggiore del dente, che viene poi raccordata alle incisioni intrasulcolari sul lato mesiale e distale del difetto da trattare.

Parte del tessuto interdentale viene mantenuto nel contesto del lembo vestibolare e la restante porzione in quello palatale/linguale: questa tecnica di incisione è particolarmente indicata in siti interdentali con ampiezza inferiore o uguale a 2 mm. Successivamente sia il lembo vestibolare che quello palatale/linguale vengono sollevati a spessore totale. Una volta esposto il difetto intraosseo, l'accessibilità e le procedure di degranulazione e detartrasi possono essere ulteriormente facilitate eseguendo delle incisioni di rilascio verticali a livello del lembo vestibolare.

Protocollo post-operatorio

Il regime postoperatorio istituito dopo una procedura di GTR è essenzialmente finalizzato alla prevenzione dell'infezione e della contaminazione della ferita. Secondo una metanalisi pubblicata nel 2003, risultati clinici migliori in termini di guadagno di attacco si associano a protocolli postoperatori più rigidi e stringenti. I protocolli operatori proposti dalla letteratura internazionale (Tonetti e coll 2002, Cortellini & Tonetti 2007a, Cortellini & Tonetti 2009b) prevedono, dopo una settimana dall'intervento, la rimozione delle suture e lo spazzolamento delicato della zona

operata con uno spazzolino con setole morbide, mentre l'utilizzo del filo interdentale è previsto dopo 4 settimane dall'intervento.

L'uso di un collutorio a base di clorexidina di gluconato allo 0.2 % (10 ml), è previsto due volte al giorno per due settimane (Cortellini e coll 2008). Il paziente viene successivamente richiamato trimestralmente per l'asportazione della placca sopragengivale e per valutare l'istruzione di igiene orale.

OBIETTIVO DELLO STUDIO:

Lo scopo dello studio è di verificare la guarigione di difetti intraossei non contenitivi (80% del difetto ad 1 parete) trattati con una associazione di amelogenine (EMD) ed osso bovino deproteinizzato (Bio-Oss, Spongiosa 0.25-1.0 mm Geistlich Biomaterials) comparandola con la guarigione di difetti intraossei non contenitivi (80% del difetto ad 1 parete) trattati con membrana riassorbibile in collagene (BioGide Geistlich Biomaterials) e osso bovino deproteinizzato (BioOss Spongiosa 0.25-1 mm).

Primary outcome :

Il guadagno di attacco clinico (CAL gain) è stato considerato come primary outcome.

Consort statement:

Lo studio è stato condotto seguendo le linee guida del Consort Statement (Moher D. e coll.2001).

Ipotesi nulla:

Nessuna differenza statisticamente significativa tra il gruppo test ed il gruppo controllo.

MATERIALI E METODI

Disegno dello studio

Lo studio è stato disegnato come studio clinico controllato.

Un campione di 40 pazienti è stato reclutato Presso il Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche e Maxillo-Facciali dell'Università degli Studi di Napoli Federico II ed è stato suddiviso in un gruppo test (20 pazienti) ed un gruppo controllo (20 pazienti). Per ciascun paziente è stato considerato un solo difetto intraosseo non contenitivo. I difetti del gruppo test (N=20) sono stati trattati con una combinazione di amelogenine ed osso bovino deproteinizzato (EMD + DBBM) mentre i difetti del gruppo controllo (N=20) sono stati trattati con una combinazione di osso bovino deproteinizzato e membrana riassorbibile in collagene (GTR).

La sperimentazione è stata approvata dal Comitato Etico dell'Università degli Studi di Napoli Federico II (Protocollo n°: 227/10) e condotta in accordo con la Dichiarazione di Helsinki. Tutti i pazienti hanno firmato il modulo di consenso informato.

Selezione dei pazienti:

Criteri di inclusione :

- Pazienti di età compresa tra i 18 e i 60 anni,ambosessi;
- Parodontite Cronica trattata con terapia non chirurgica
- Difetti intraossei non contenitivi (il difetto intraosseo doveva essere almeno per l'80 % ad una parete); INFRA \geq 3 mm
- Gengiva cheratinizzata \geq 2 mm;
- FMPS e FMBS \leq 20%
-

Criteri di esclusione:

- Pazienti con patologie sistemiche (patologie cardiache,diabete ecc.);
- Donne gravide e/o in allattamento
- Fumatori
- Parodontite non trattata
- Elementi dentari con lesioni delle forcazioni;

Procedura sperimentale

Misurazioni cliniche

Le seguenti misurazioni cliniche sono state registrate al baseline e dopo 12 mesi di follow-up.

- FMPS (full mouth plaque score) (6 siti per dente)
- FMBS (full mouth bleeding score)(6 siti per dente)
- PD (probing depth)
- CAL (clinical attachment level)
- REC (recession)

Tutte le misurazioni sono state rilevate su sei siti per ciascun dente (mv,v,dv,l,dl,l).

Tutte le variabili sono state misurate utilizzando una sonda millimetrata (PCP-UNC 15 Hu-Friedy,Chicago, IL.).

Misurazioni chirurgiche

Durante le fasi chirurgiche sono state registrate le seguenti misurazioni:

- 1) CEJ-BD: distanza verticale dalla CEJ al fondo del difetto (BD)
- 2) INFRA: distanza verticale dalla cresta ossea (BC) al fondo del difetto (BD)
- 3) WIDTH: distanza orizzontale dalla superficie radicolare(RS) alla cresta ossea (BC)

Procedura chirurgica

Dopo anestesia loco-regionale è stato scoltato un lembo a spessore totale utilizzando la tecnica di preservazione della papilla modificata (MPPT) o semplificata (SPPT) a seconda dell'indicazione (Cortellini e coll.1995,Cortellini e coll 1999). Dopo aver sollevato il lembo, il tessuto di granulazione è stato rimosso e la radice è stata levigata utilizzando strumenti ultrasonici e manuali. Durante la fase chirurgica difetti intraossei contenitivi sono stati esclusi dallo studio. In entrambi i gruppi la superficie radicolare è stata decontaminata utilizzando un gel a base di EDTA al 24% per 2 minuti (Straumann PrefGel,Insitute Straumann).

I difetti del gruppo test sono stati trattati con una associazione di EMD e DBBM, mentre i difetti del gruppo controllo sono stati trattati con una associazione di

membrane riassorbibili in collagene (Bio-Gide) ed osso bovino deproteinizzato (BioOss).

Il lembo è stato suturato con una sutura monofilamento 5-0 (Ethicon Inc., Ethibond, Excel). Le suture sono state rimosse dopo 1 settimana dall'intervento. Ai pazienti di entrambi i gruppi è stato prescritto l'utilizzo di un antinfiammatorio (Nimesulide 100 mg/8h/3 giorni dopo i pasti) ed un collutorio a base di CHX (Clorexidina 0,12% ogni 8 h per 14 giorni).

I pazienti sono stati richiamati per i controlli a 1,2,3,4 settimane e 1,3,6,9,12 mesi. A 6 e 12 mesi di follow-up sono state registrate le seguenti variabili cliniche : FMPS, FMBS, PD, CAL e REC.

ANALISI STATISTICA

L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando il Software NCSS-PASS (Number Cruncher Statistical System). L'eterogeneità dei due gruppi di pazienti in relazione all'età, al FMPS ed al FMBS è stata verificata mediante il test di Fisher, mentre

l'eterogeneità tra maschi e femmine è stata valutata utilizzando il test del Chi-square.

Tutte le variabili cliniche sono state espresse in millimetri, fatta eccezione per il FMPS ed il FMBS che sono stati espressi in percentuale. Tutte le variabili cliniche sono state espresse come medie e deviazioni standard (mean±SD). L'eterogeneità nella distribuzione dei difetti nei due gruppi al baseline, in base al PD,CAL,REC,CEJ-BD,INFRA e WIDTH, è stata valutata mediante il test di Kolmogorov-Smirnov.

L'analisi comparativa intra-gruppo è stata effettuata mediante un paired t-test, mentre l'analisi comparativa inter-gruppo è stata effettuata mediante un unpaired t-test. La frequenza di distribuzione dei risultati, sia per la riduzione della profondità di tasca, sia per il guadagno di attacco clinico, è stata analizzata mediante il test di Mantel-Haenszel. Per tutti i test un p-value di 0.05 è stato considerato statisticamente significativo.

RISULTATI

Tutti i pazienti arruolati per lo studio hanno concluso la sperimentazione e non sono state registrate complicanze. La tabella 1 riporta i due campioni presi in esame, che sono risultati omogenei per età, sesso, FMPS e FMBS ($p > 0.05$). I pazienti del gruppo test (11 uomini e 9 donne) avevano una media d'età di 44.5 ± 5.5 , mentre quelli del gruppo controllo (7 uomini e 13 donne) 44.3 ± 4.7 . Al baseline il FMPS ed il FMBS erano rispettivamente del $17.1 \pm 2.5\%$ e del $17.5 \pm 7.9\%$ per i pazienti del gruppo test, mentre nei pazienti del gruppo controllo si sono registrati un FMPS e un FMBS del $17.8 \pm 2.0\%$ e del $14.8 \pm 2.6\%$. In tabella 2 sono rappresentate le misurazioni cliniche al baseline e le misurazioni intrachirurgiche. Al baseline per i difetti del gruppo test è stato registrato un PD di 8.2 ± 1.9 mm un CAL di 9.3 ± 2.4 mm ed una REC di 1.2 ± 1.6 mm, mentre nel gruppo controllo si è registrato un PD di 8.1 ± 2.1 mm un CAL di 9.3 ± 2.5 mm ed una REC di 1.1 ± 1.4 mm. In fase intrachirurgica i difetti del gruppo test hanno mostrato un CEJ-BD di 10.5 ± 2.4 mm, un INFRA di 6.1 ± 1.9 mm ed un WIDTH di 4.2 ± 0.7 mm. Viceversa nel gruppo controllo il CEJ-BD è risultato essere di 10.9 ± 2.5 mm, l'INFRA di 6.0 ± 2.0 mm ed il WIDTH di 3.8 ± 1.0 mm. Nessuna differenza statisticamente significativa è stata evidenziata tra il gruppo test ed il gruppo controllo ($P < 0.05$). In tabella 3 vengono

riassunti i risultati riguardanti la riduzione della profondità di tasca, il guadagno di attacco clinico e l'incremento della recessione gengivale. Nei pazienti del gruppo test si è registrata una riduzione della profondità di tasca di 4.6 ± 1.9 mm, mentre nel gruppo controllo la riduzione della profondità di tasca è stata di 4.4 ± 1.7 mm. Non si sono riscontrate differenze statisticamente significative tra il gruppo test ed il gruppo controllo per quanto riguarda la riduzione della profondità di tasca. Il guadagno di attacco clinico è stato di 3.8 ± 1.6 mm per i difetti del gruppo test e di 3.7 ± 1.2 mm per i difetti del gruppo controllo. La differenza tra i due gruppi, per quanto riguarda il guadagno di attacco clinico, non è statisticamente significativa. Per quanto riguarda l'incremento della recessione gengivale, i siti trattati nel gruppo test hanno mostrato un incremento di recessione gengivale pari a 0.6 ± 1.0 mm, mentre nei pazienti del gruppo controllo l'aumento della recessione gengivale è stata di 0.7 ± 0.9 mm. Anche in questo caso non si sono registrate differenze statisticamente significative.

In tabella 4 sono rappresentati i dati della frequency distribution, riguardanti la profondità di tasca residua ed il guadagno di attacco clinico. I difetti del gruppo test, dopo 12 mesi di follow-up, hanno mostrato una profondità di tasca residua di 2-3 mm nel 45% dei casi e di 4-5 mm nel 50%. Per i difetti del gruppo controllo si è registrata una profondità di tasca residua di 2-3 mm nel 60% dei casi e di 4-5 mm nel 25%.

Per quanto riguarda il guadagno di attacco clinico, nel gruppo test, il 35% ha guadagnato 2-3 mm di attacco, mentre il 60% ha avuto un guadagno di attacco clinico > 4 mm. Nel gruppo controllo il 50 % dei casi ha guadagnato 2-3 mm di attacco, mentre il 50 % ha avuto un guadagno di attacco clinico > 4 mm.

DISCUSSIONE

I risultati di questo studio clinico controllato indicano che, nel trattamento dei difetti intraossei ad una parete, la terapia rigenerativa, effettuata con una combinazione di osso bovino deproteinizzato ed amelogenina, dà risultati analoghi rispetto a quelli ottenuti con membrana riassorbibile in collagene supportata da osso bovino deproteinizzato.

I difetti intra-ossei, costituiti prevalentemente da una parete e, pertanto, non contenitivi, costituiscono lesioni di difficile trattamento in senso rigenerativo, per la ridotta stabilizzazione del coagulo ematico, per il minor afflusso di cellule formatrici e per la scarsa capacità di contenimento dei fattori biologici e di crescita nella ITR, nonché di supporto della membrana nelle tecniche di GTR. Per tale motivo, nei difetti ad una parete, trovano indicazione elettiva le membrane in e-PTFE rinforzate in titanio (TR) che hanno sufficiente rigidità per mantenere lo spazio e proteggere il coagulo o le membrane riassorbibili sostenute da materiale di riempimento (innesti ossei).

Poco efficace, nei difetti ad una parete, è l'amelogenina (utilizzata nella ITR) che, essendo fluida, non ha capacità di mantenere lo spazio e trova indicazione ideale nei difetti contenitivi a tre pareti (Tonetti e coll. 2002). Diversi Autori hanno proposto di utilizzare l'amelogenina anche nei difetti ad uno o due pareti, utilizzandola assieme ad un materiale di supporto (scaffold) che ne assicuri la permanenza nella ferita, assieme al sostegno del lembo.

Lekovic e coll.2000 hanno incluso nel loro studio 21 pazienti trattati, in maniera random mediante spit-mouth, con amelogenina e con associazione tra amelogenina (EMD) e minerale osseo poroso di origine bovina (DBBM). Dopo 6 mesi di follow-up i difetti vennero sondati e venne effettuato il rientro chirurgico. I siti trattati con EMD+BPBM mostravano una riduzione del PD (3.43 ± 1.32 mm sui versanti vestibolari e 3.36 ± 1.35 mm sui versanti linguali) significativamente maggiore rispetto ai siti trattati con EMD (1.91 ± 1.42 mm sui versanti vestibolari e 1.85 ± 1.38 mm sui versanti linguali). Il gruppo EMD/DBBM presentava anche un guadagno di attacco clinico maggiore (3.13 ± 1.41 mm sui versanti vestibolari e 3.11 ± 1.39 mm sui versanti linguali) rispetto al gruppo EMD (1.72 ± 1.33 mm sui versanti vestibolari e 1.75 ± 1.37 mm sui versanti linguali). Un limite importante di questo studio è che non viene menzionato il numero delle pareti dei difetti (Leikovic e coll. 2000).

Sculean e collaboratori, in uno studio controllato in cui i difetti del gruppo test sono stati trattati con amelogenine e DBBM ed i difetti del gruppo controllo solo con DBBM, non riportano alcuna differenza significativa tra le due tecniche in termini di guadagno di attacco clinico (4.9 ± 2.1 mm di guadagno di attacco clinico per i difetti trattati solo con DBBM e 4.7 ± 2.1 mm per i difetti trattati con (EMD+DBBM))(Sculean e coll 2008).

Nel lavoro pubblicato da Sculean e coll. 2008 sono stati trattati difetti intraossei contenitivi, quindi difetti la cui morfologia dà una prognosi favorevole con qualunque metodica rigenerativa. Inoltre, se è vero che clinicamente l'utilizzo del DBBM da solo ha dato risultati analoghi alla combinazione EMD+DBBM, è pur vero che istologicamente l'utilizzo di DBBM da solo dà una riparazione e non una vera rigenerazione (Reynolds e coll 2003), mentre studi istologici nell'uomo hanno dimostrato che le amelogenine inducono la formazione di nuovo cemento acellulare e di nuovo attacco (Hammastrom e coll 1997).

A conferma della necessità di associare alla amelogenina una indispensabile funzione di supporto, Cortellini & Tonetti nel 2007 hanno proposto una nuova tecnica denominata MIST (minimally invasive surgical technique), che permette di trattare lesioni interdentali combinate (3, 2 ed 1 parete) ≤ 5.5 mm. Con questa tecnica, in cui le

pareti del difetto sono stabili, gli autori hanno ottenuto una riduzione della profondità della tasca di 4.8 ± 1.8 mm ed un guadagno di attacco clinico di 4.8 ± 1.9 mm.

Successivamente gli Autori con la m-MIST (modified minimally invasive surgical technique), in cui il lembo d'accesso è limitato a quello vestibolare, utilizzando EMD da solo, EMD+DBBM o niente, hanno evidenziato i seguenti risultati, indipendentemente dal numero delle pareti della tasca. L'associazione EMD+DBBM dà un guadagno di attacco clinico inferiore rispetto alla sola amelogenina o senza alcuna procedura rigenerativa (3.7 ± 1.3 mm con EMD+DBBM, 4.1 ± 1.2 mm con EMD e 4.1 ± 1.9 mm senza procedura rigenerativa) (Cortellini & Tonetti 2011).

Pertanto, la sola gestione mini-invasiva dei lembi e la conseguente stabilità della ferita, anche senza procedura rigenerativa, sarebbe sufficiente per ottenere un guadagno di attacco clinico superiore ai 4 mm, sebbene gli Autori non riportino dati sulla morfologia del difetto né, ovviamente sul tipo di guarigione istologica ottenuta.

I dati riportati da Cortellini & Tonetti si riferiscono a difetti non profondi. I dati riportati nel nostro lavoro sono invece relativi a difetti intraossei profondi > 5 mm, non contenitivi, in cui l'80% della componente intraossea è ad una parete e sono necessari pertanto lembi d'accesso normali. I risultati ottenuti con EMD+DBBM o DBBM +

membrana di collagene bovino sono analoghi (il guadagno di attacco clinico dei difetti trattati con EMD+DBBM è stato di 3.8 ± 1.6 mm, mentre quello dei difetti con DBBM+membrana in collagene è stato di 3.7 ± 1.2 mm, la riduzione della profondità di tasca è stata di 4.6 ± 1.9 mm nel gruppo test e di 4.4 ± 1.7 mm nel gruppo controllo ed infine i difetti trattati con EMD+DBBM hanno mostrato una recessione gengivale 0.6 ± 1.0 mm rispetto ai difetti trattati con DBBM e membrana in collagene che hanno mostrato una recessione di 0.7 ± 0.9 mm) e di tipo rigenerativo, come dimostrato da studi istologici nell'uomo (Becker e coll 1987, Gottlow e coll 1986, Stahl e coll.1991).

CONCLUSIONI

Nei difetti non contenitivi, due tecniche rigenerative, l'utilizzo delle amelogenine (EMD) in associazione con un innesto di osso bovino deproteinizzato (DBBM) e la GTR (DBBM+membrana riassorbibile in collagene) hanno dato risultati analoghi in relazione alla riduzione della profondità di tasca ed al guadagno di attacco clinico. Tuttavia uno studio randomizzato controllato con una numerosità campionaria maggiore è necessario per validare questa tecnica rigenerativa nei difetti non contenitivi.

TABELLE

TAB.1 POPOLAZIONE

	GTR	EMD+DBBM	Significance
Age	44,3 ± 4,7	44,5 ± 5,5	0,88
M/F	7/13	11/9	0,34
FMPS	17,8 ± 2,0	17,1 ± 2,5	0,37
FMBS	14,8 ± 2,6	17,5 ± 7,9	0,17

TAB.2 MISURAZIONI PRE ED INTRACHIRURGICHE

	GTR	EMD+DBBM	Significance
PD (mm)	8,1 ± 2,1	8,2 ± 1,9	0,94
CAL (mm)	9,3 ± 2,5	9,3 ± 2,4	0,95
REC (mm)	1,1 ± 1,4	1,2 ± 1,6	0,92
CEJ-BD	10,9 ± 2,5	10,5 ± 2,4	0,61
INFRA	6,0 ± 2,0	6,1 ± 1,9	0,81
WIDTH	3,8 ± 1,0	4,2 ± 0,7	0,15

TAB.3 COMPARAZIONE TRA I GRUPPI AL BASELINE E DOPO 1 ANNO

	Baseline	Follow-up (12 months)	Change	Significance
PD (mm)				
EMD+DBBM	8,2 ± 1,9	3,6 ± 1,1	4,6 ± 1,9	<0.001
GTR	8,1 ± 2,1	3,7 ± 1,3	4,4 ± 1,7	<0.001
Significance	0,94	0,79	0,79	
CAL (mm)				
EMD+DBBM	9,3 ± 2,4	5,5 ± 2,7	3,8 ± 1,6	<0.001
GTR	9,3 ± 2,5	5,6 ± 2,3	3,7 ± 1,2	<0.001
Significance	0,95	0,85	0,82	
REC (mm)				
EMD+DBBM	1,2 ± 1,6	1,8 ± 2,0	0,6 ± 1,0	0,01
GTR	1,1 ± 1,4	1,8 ± 1,8	0,7 ± 0,9	0,002
Significance	0,92	0,93	0,74	

TAB.4 Frequency Distribution del PD residuo e del CAL Change

	RESIDUAL PD (mm)				CAL CHANGE (mm)			
	0-1	2-3	4-5	≥6	0-1	2-3	4-5	≥6
EMD+DBBM	0	9	10	1	0	7	9	3
	(0%)	(45%)	(50%)	(5%)	(0%)	(35%)	(45%)	(15%)
GTR	0	12	5	3	0	10	8	2
	(0%)	(60%)	(25%)	(15%)	(0%)	(50%)	(40%)	(10%)

ICONOGRAFIA

CASO CONTROLLO (Bio-Oss Bio-Gide)

Baseline



Chirurgia



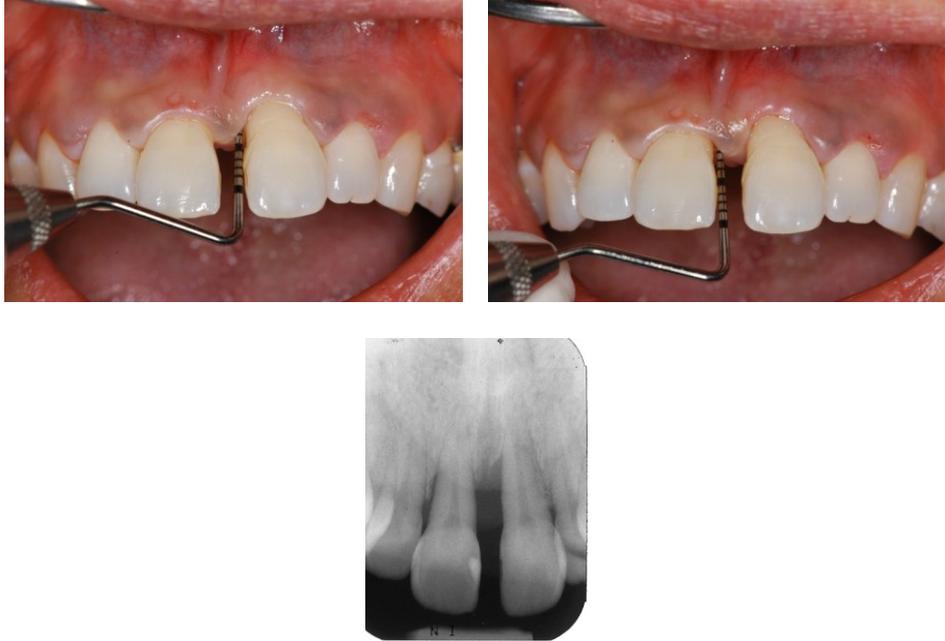


Guarigione dopo 12 mesi

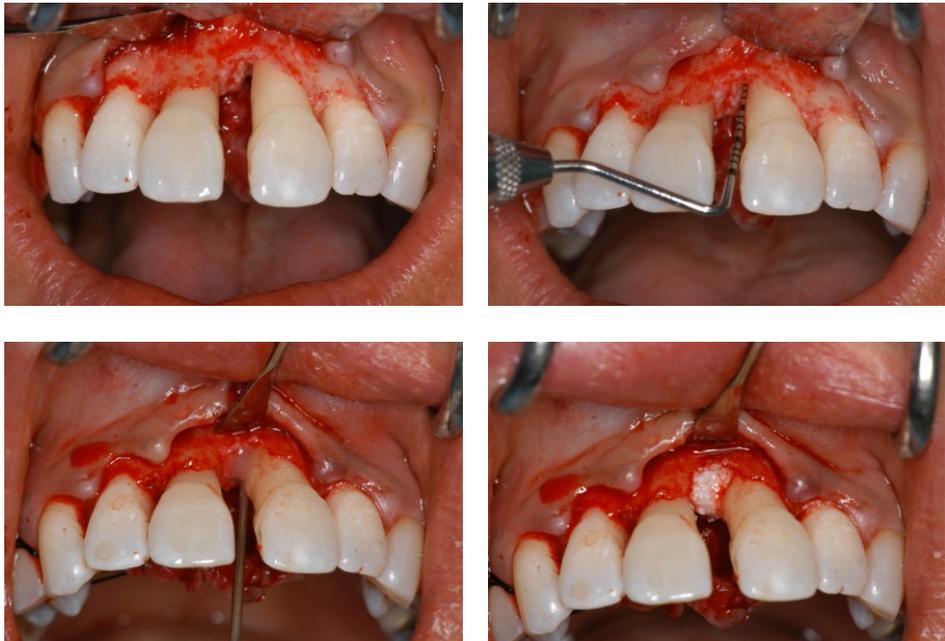


CASO TEST (Emdogain Bio-Oss)

Baseline



Chirurgia





Guarigione dopo 12 mesi



BIBLIOGRAFIA

Becker W, Becker BE, Prichard J, Caffesse R, Rosenberg E, Gian-Grasso J. Root isolation for new attachment procedures. A surgical and suturing method: three cases report. *J Periodontol* 1987;12:819-826.

Becker W, Becker BE, Berg L, Prichard J, Caffesse R, Rosenberg E. New attachment after treatment with root isolation procedures. report for treated Class III and Class II furcations and vertical osseous defects. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1988;8:8-23.

Hammarstrom L. Enamel matrix cementum development and regeneration. *J Clin Periodontol* 1997; 9:658-668

Blomlof J, Blomlof L, Lindskog S. Effect of different concentrations of EDTA on smear removal and collagen exposure in periodontitis-affected root surfaces. *J Clin Periodontol* 1997; 4:534-38

Bosshardt DO. Biological mediators and periodontal regeneration a review of enamel matrix proteins at the cellular and molecular levels. *J Clin Periodontol* 2008; 35(Suppl):B7-I 05. Review

Bowers GM, Chadroff B, Carnevale R, Mellonig J, Corio R, Emerson J, Stevens M, Romberg E. Histologic evaluation of new attachment apparatus formation in humans. Part III. *J Periodontol* 1989;60:683-93.

Camargo PM., Leikovic V., Weinlaender M., Vasilic N., Kenney EB., Madzarevic M. The effectiveness of enamel matrix proteins used in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects in humans. *J Clin Periodontol* 2001;11:1016-1022.

Carnevale G.,Cairo F., Tonetti MS. Long-term effects of supportive therapy in periodontal patients treated with fibre retention osseous resective surgery.I: recurrence of pockets, bleeding on probing and tooth loss. J Clin Periodontol 2007;4:334-341.

Caton J, Nyman S, Zander H. Histometric evaluation of periodontal surgery II. Connective tissue attachment levels after four regenerative procedures. J Clin Periodontal 1980.7224-31

Cortellini P, Prato GP, Tonetti MS. The modified papilla preservation technique A new surgical approach for interproximal regenerative procedures. J Periodonto/1995;66261-6

Cortellini p Tonetti MS. Minimally invasive surgical technique and enamel matrix derivative in intra-bony defects. 1: Clinical outcomes and morbidity. J Clin Periodontal 2007 34.1082-8.

Cortellini P. Labriola A., Zambelli R., Pini Prato GP., Nieri M.,Tonetti MS. Chlorhexidine with an anti discoloration system after periodontal flap surgery: a cross-over, randomized, triple-blind clinical trial. J Clin Periodontol 2008;7: 614-620.

Cortellini p Tonetti MS. Improved wound stability with a modified minimally invasive surgical technique in the regenerative treatment of isolated interdental intra bony defects. J Clin Periodontal 2009;36 157-63.

Cortellini P, Tonetti MS. Clinical performance of a regenerative strategy for intra bony defects: Scientific evidence and clinical experience. J Periodonto/2005;76.341-50

Cortellini P, Prato GP, Tonetti MS. The modified papilla preservation technique A new surgical approach for interproximal regenerative procedures. J Periodontol 1995;66:261-6

Cortellini P, Pini Prato G, Tonetti MS. The modified papilla preservation technique with bioresorbable barrier membranes in the treatment of intrabony defects. Case reports. Int J Periodontics Restorative Dent 1996; 16:546-59

Cortellini P, Tonetti MS, Lang NP, Suvan JE, Zucchelli G., Vangsted T., Silvestri M., Rossi R., McClain P., Fonzar A., Dubravec D., Adriaens P. The simplified papilla preservation flap in the regenerative treatment of deep intrabony defects : clinical outcomes and post-operative morbidity. J Periodontol 2001; 12:1702-1712.

Cortellini P, Tonetti MS. Evaluation of the effect of tooth vitality on regenerative outcomes in intrabony defects. J Clin Periodontol 2001;7:672-679

Cortellini P, Prato GP, Tonetti MS The simplified papilla preservation flap A novel surgical approach for the management of soft tissues in regenerative procedures. Int J Periodontics Restorative Dent 1999; 19:589-99.

Cortellini P. & Tonetti MS. Clinical and radiographic outcomes of the modified minimally invasive surgical technique with and without regenerative materials: randomized control trial in intra-bony defects. J Clin Periodontol 2011;38:365-373.

Esposito M, Grusovin MG, Papanikolaou N, Coulthard P, Worthington HV Enamel matrix derivative (Emdogain(R)) for periodontal tissue regeneration in intra bony defects. Cochrane Database Syst Rev 2009.

Garrett S. Periodontal regeneration around natural teeth. In: Genco R (ed). World Workshop in Periodontics. Lansdowne (VA). American Academy of Periodontology 1996. 62 1-66

Gottlow J, Nyman S, Lind he J, Karring T WennstroEmJNew attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case reports. J Clin Periodontol 1986,13.604-16

Heijl L, Heden G, Svardstrom G, Ostgren A Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of intrabony periodontal defects. J Clin Periodontol 1997,24:05-14.

Hiatt WH, Schallhorn RG, Aaronian AG. The induction of new bone and cementum formation.IV. Microscopic examination of the periodontium following human bone and marrow allograft, autograft and non graft periodontal regenerative procedures. J Periodontol 1978; 10:495-512.

Leikovic V., Camargo PM, Weinlaender M., Nedic M., Aleksic Z., Kenney EB. Comparison between enamel matrix proteins used alone or in combination with bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony periodontal defects in humans. J Periodontol 2000 ;7:1110-1116.

Kats J. Elevated blood glucose levels in patients with severe periodontal disease. J Clin Periodontol 2001;7:710-712.

Kinala BM, Steiger J, Neely AL, Shaah M., Bholia M. Treatment of class II molar furcation involvement: meta-analysis of reentry results. J Periodontol 2011;3:413-426.

Nyman S, Gottlow J, Karring T, Lindhe J. The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. *J Clin Periodontol* 1982;9:257-265.

Oates TW, Mumford JH, Carnes DL, Cochran DL. Characterization of proliferation and cellular wound healing fill in periodontal cells using an in vitro wound model. *J Periodontol* 2001;72: 324-330.

Papapanou PN. Periodontal disease epidemiology. *Ann Periodontol* 1996;1:1-36 (review).

Ramford SP The role of dental health education and auxiliary personnel in the prevention of periodontal disease. *J Ala Dent Assoc* 1974;58:25-30

Ramseier CA, Rasperini G, Batia S, Giannobile WV Advanced regenerative technologies for periodontal tissue repair *Periodontology* 2000; 2011 accepted for publication.

Rasperini G, Silvestri M, Schenk RK, Nevins ML. Clinical and histologic evaluation of human gingival recession treated with a subepithelial connective tissue graft and enamel matrix derivative (Emdogain). a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2000;20:269-75.

Reynolds MA., Aichelmann-Reidy ME., Branch-Mays GL., Gunsolley JC. The efficacy of bone replacement grafts in the treatment of periodontal osseous defects. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003; 1: 227-265 (review).

Sanz M, Tonetti MS, Zabalegui I, Sicilia A, Blanco J, Rebelo H, Rasperini G, Merli M, Cortellini P, Suvan JE Treatment of intra bony defects with enamel matrix proteins or barrier membranes: results from a multicenter practice-based clinical trial. *J Periodontol* 2004; 5:726-33.

Sculean A, Kiss A, Miliauskaite A, Schwarz F, Arweiler NB, Hanmg M. Ten-year results following treatment of intra-bony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration J Clin Periodontol 2008, 35:17-24

Scheyer ET., Velasquez-plata D.,Brunsvold MA.,Lasho DJ., Mellonig JT. Clinical comparison of a bovine-derived xenograft used alone and in combination with enamel matrix derivative for the treatment of periodontal osseous defects in human.J Periodontol 2002 ;4:423-432.

Stahl SS, Froum SJ. Healing of human suprabony lesions treated with guided tissue regeneration and coronally anchored flaps. Case reports. J Clin periodontal 1991;1:69-74.

Takei HH, Han TJ, Carranza FA, Kenney EB, Lekovic V Flap technique for periodontal bone implants. Papilla preservation technique. J Periodontal 1985; 56:204-10.

Tervonen T & Oliver RC. Long-term control of diabetes mellitus and periodontitis. J Clin Periodontol 1993; 20:431-435.

Tsitoura E., Tucker R.,Suvan J.,Laurell L., Cortellini P, Tonetti MS. Baseline radiographic defect angle of the intrabony defect as a prognostic indicator in regenerative periodontal surgery with enamel matrix derivative. J Clin Periodontol 2004; 8:643-647

Tonetti MS,Pini Prato GP, Cortellini P. Effect of cigarette smoking on periodontal healing following GTR in infrabony defects. A preliminary retrospective study. J Clin Periodontol 1995 ; 22: 229-234

Tonetti MS, Cortellini P, Lang NP, Suvan JE, Adriaens P, Dubravec D, Fonzar A, Fourmoussis I, Rasperini G, Rossi R, Silvestri M, Topol H, Watzek B, Zybutz M

Clinical outcomes following treatment of human intra bony defects with GTR bone replacement material or access flap alone A multicenter randomized controlled clinical trial. J Clin Periodontol 2004,3; 70-6

Tonetti MS, Pini Prato GP., Cortellini P. Periodontal re generation of human intrabony defects.IV. Determinans of healing response. J Periodontol 1993 ; 64:934-940

Tonetti MS, Pini Prato GP, Cortellini P. Factors affecting the healing response of intrabony defects following guided tissue regeneration and access flap surgery. J Clinical Periodontol 1996 ; 23:548-556

Tonetti MS, Lang NP, Cortellini P, Suvan JE, Adriaens P, Dubraved D., Fonzar A., Fourmouis I., Mayfield L, Rossi R., Silvestri M., Tiedemann C., Topoll H., Vangsted T., Walkamm B. J Clin Periodontol 2002;29:317-325.

Trombelli L, Farina R, Franceschetti G, Calura G. Single-flap approach with buccal access in periodontal reconstructive procedures. J Periodontol 2009;80:353-60

Wachtel H, Schenk G, Bohm S, Weng O, Iuhr O, Hurzeler MB Microsurgical access flap and enamel matrix derivative for the treatment of periodontal intrabony defects. a controlled clinical study J Clin Periodontal 2003;30:496-504