

Universita' degli Studi di Napoli "Federico II"
Facolta' di Medicina e Chirurgia

DOTTORATO DI RICERCA
IN SCIENZE ODONTOSTOMATOLOGICHE (21° Ciclo)
Cordinatore: Prof. Sndro Rengo

*Indirizzo: BIOTECNOLOGIE E BIOMATERIALI IN
ODONTOSTOMATOLOGIA E CHIRURGIA ORO-MAXILLO-
FACCIALE*

titolo della tesi:

LA RICOSTRUZIONE DEI DIFETTI OSSEI NEL DISTRETTO
ORO-MAXILLO-FACCIALE MEDIANTE L'UTILIZZO DI
INTARSI IN BIOCERAMICA.
INTRODUZIONE ALLA TECNICA *B I O . C E R . I N .*[®]
(*BIOACTIVE CERAMIC INLAY*)

Relatore:
PROF. LUIGI CALIFANO

Candidato:
CARMINE ANDREA NUNZIATA

*A mia moglie
Sabrina*

INDICE

1.	INTRODUZIONE.....	3
2.	CARATTERISTICHE IDEALI DEL BIOMATERIALE.....	5
3.	MICROAMBIENTE OSPITE.....	6
4.	LO STATO ATTUALE IN ODONTOIATRIA.....	8
5.	SCOPO DELLA RICERCA.....	10
6.	MATERIALI E METODI	
	a. Scelta del Biomateriale.....	12
	b. Processing del Biomateriale.....	12
	c. Fase Preparativa.....	12
	d. Fase Chirurgica.....	15
	e. Follow Up.....	21
7.	RISULTATI.....	22
8.	ICONOGRAFIA.....	24
9.	DISCUSSIONE E CONCLUSIONI.....	34
	BIBLIOGRAFIA	

1. INTRODUZIONE

Il crescente sviluppo dell'ingegneria tissutale ha apportato notevoli progressi nel settore che si occupa della rigenerazione di tessuti persi per cause patologiche o traumatiche.

Nel campo della chirurgia ossea (ortopedica, neurochirurgia, maxillo – facciale, così come nel settore odontoiatrico) sono emerse diverse applicazioni basate sull'utilizzo di materiali biocompatibili che fungono da "osteoconduttori" potendoli distinguere in materiali *bioinerti* o materiali *bioattivi* a seconda dell'interazione che avviene sulla loro superficie a contatto dell'osso. L'associazione di questi biomateriali con *fattori di crescita* specifici, *cellule staminali autologhe osteogeniche*, *proteine che promuovono l'adesione cellulare*, in modo da ottenere un "materiale ibrido" osteoinduttivo rappresenta una recente evoluzione degli studi che la ricerca ha compiuto in questi ultimi anni. ^(1,2,3)

Tra i Biomateriali a superficie attiva che trovano attualmente impiego nella progettazione di osteoconduttori e/o materiali ibridi, riconosciamo le seguenti principali categorie:

- NON RIASSORBIBILI : l'**Idrossiapatite (HA)**, la cui struttura mostra lo stesso rapporto Ca/P presente nell'osso, rilascia ioni fosforo che pare inducano la neosteogenesi e in ambiente fisiologico presenta fenomeni di degradazione della superficie con la formazione di "carbonato-apatite", un prodotto che stabilisce un forte legame molecolare con l'osso; tale interazione è stata denominata "Bone-Bonding".

Nelle procedure di preparazione della HA si possono programmare con accurati processi produttivi la *Cristallinità*, la *Morfologia*, la *Porosità* e la *Densità*.

- RIASSORBIBILI : Il **Calcio Carbonato** (Corallo Marino) ed il **Calcio Fosfato** (β -tricalcio fosfato), presentano le stesse caratteristiche di bioattività con la differenza che nel

tempo (da quattro a sei mesi) vengono completamente riassorbiti dall'organismo, per cui trovano indicazione in particolari situazioni cliniche.

L'**Osso Bovino** ha trovato largo impiego nel settore odontoiatrico, così come l'**Osso di Banca Umano Liofilizzato**, ma il loro uso presenta sempre un elevato rischio per il possibile contagio infettivo.

Prelievi di **Osso Autologo** utilizzati come innesti liberi risolvono il problema delle trasmissioni di eventuali malattie e fungono anche da osteoinduttori per la presenza di midollo osseo che rappresenta la principale sorgente di fattori di crescita e di cellule osteoprogenitrici.

Un ulteriore composto dalle caratteristiche intermedie tra prodotti riassorbibili e non, si ottiene miscelando in varie proporzioni l'idrossiapatite con il β -tricalcio fosfato; il prodotto ceramico così ottenuto viene denominato Calcio Fosfato Bifasico (BCP).

2. CARATTERISTICHE IDEALI DEL BIOMATERIALE

Recenti tecnologie per l'integrazione o la sostituzione ossea hanno dimostrato che alcuni biomateriali quali l'idrossiapatite e i calcio-fosfati, sono non solo biocompatibili e osteoconduttivi, ma anche bioattivi ^(1,4); ovvero capaci di promuovere la formazione di tessuto osseo nuovo.

È stato ampiamente dimostrato su campioni in vitro e in animali che le ceramiche bioattive forniscono un substrato idoneo per la rigenerazione di tessuto osseo nuovo ^(1,5).

Da studi recenti sono emerse quali dovrebbero essere le caratteristiche ideali dei Biomateriali ottenuti industrialmente, per favorire la crescita e la migrazione degli osteoblasti all'interno della loro impalcatura.

E' stato così appurato che la dimensione dei pori, (risulta più funzionale una struttura con macropori del diametro da 200 a 400µm), insieme alla loro completa interconnessione giocano un ruolo chiave per assicurare l'accesso delle cellule nelle regioni più profonde e la completa vascolarizzazione del materiale dopo l'avvenuto impianto "in vivo" ^(6,7,8).

L'obiettivo principale della ricerca in questo settore è volto dunque ad acquisire conoscenze più approfondite sia sulle proprietà intrinseche dei materiali che sulle interazioni che possono instaurarsi a livello dell'interfaccia materiale impiantato/tessuto osseo.

3. MICROAMBIENTE OSPITE

L'adesione e l'integrazione dei biomateriali, dipendono cioè anche da meccanismi locali legati al microambiente osseo:

- La presenza di una rete vascolare adatta a garantire la nutrizione del tessuto;
- La presenza di un compartimento altamente efficiente di cellule staminali mesenchimali (CSM), capaci di evolvere nella linea osteoblastica per la rigenerazione di nuovo tessuto osseo.

Le cellule mesenchimali presenti nel midollo osseo conservano la capacità di differenziarsi in osteoblasti, condroblasti, miociti o cellule adipose a seconda dell'evento che ha scatenato l'attivazione del processo differenziativo. Il numero di queste cellule nel midollo osseo di un individuo adulto è in media circa una per 100.000 cellule nucleate e decresce con l'età (da una a 10.000 nel neonato ad una ogni 2.000.000 nell'età Geriatrica) ⁽⁹⁾.

Attualmente esistono diversi sistemi di cultura che permettono l'espansione "in vitro" di questi elementi in modo da ottenere un "pool" di cellule autologhe disponibili per applicazioni "in vivo".

E' possibile infatti incorporare gli osteoblasti così ottenuti a del materiale bioceramico ed impiantarli in vivo per favorirne efficacemente e rapidamente sia l'attecchimento che una nuova formazione di osso che sostituirà o ingloberà il biomateriale (fig.1).

Gli osteoblasti producono inoltre alcuni componenti essenziali dello stroma: le proteine della matrice extracellulare.

Queste sono rappresentate per il 90% da proteine collageniche (di cui il 97% è collagene tipo I ed il restante di tipo V) e dal 10% da proteine non collageniche così suddivise:

- Osteocalcina 20%
- Osteonectina 20%

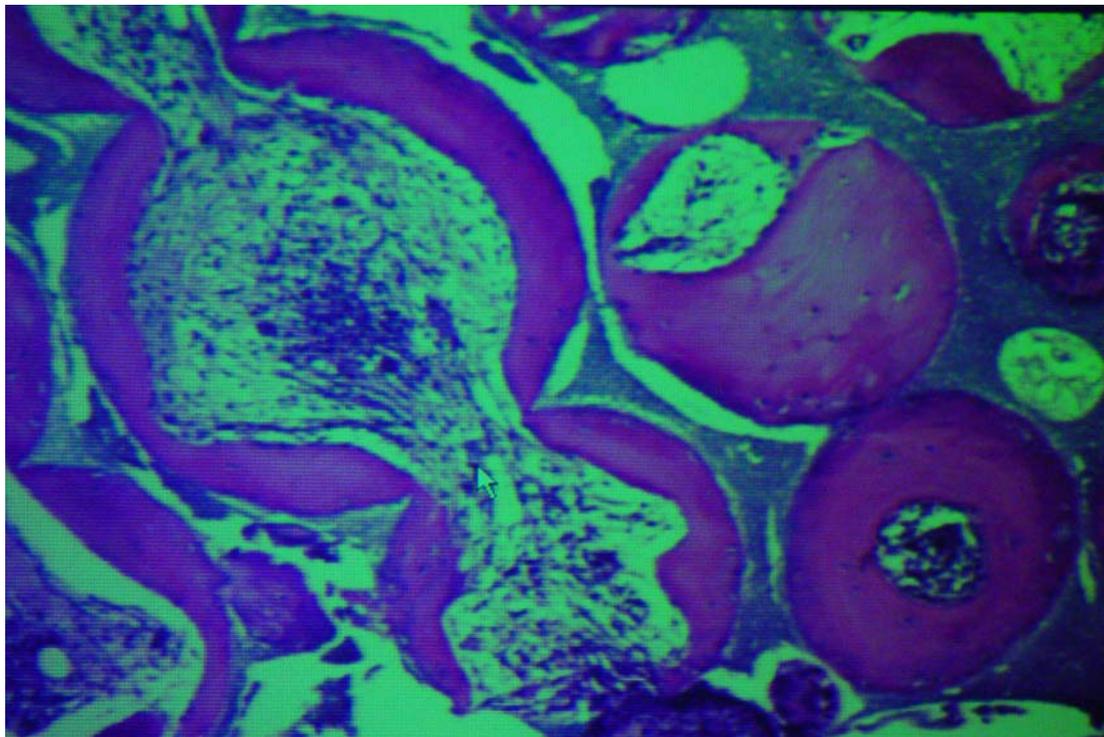
- Sialoproteine 12%
- Proteoglicani 10%, ed inoltre Fibronectina, Osteopontina, fattori di crescita, Proteine Morfogenetiche dell'Osso (BMP).

Per la maggior parte esse sono coinvolte nel fenomeno dell'adesione e della comunicazione cellulare.

In modo particolare la **Fibronectina** ed il **Collagene di tipo I** contengono alcune sequenze di aminoacidi come Arg – Gly – Asp (denominate sequenze RGD) che si legano a particolari recettori di membrana appartenenti alla famiglia delle *integrine* presenti sulla superficie degli osteoblasti ^(1,2).

Si può prevedere quindi di ottimizzare l'uso dei biomateriali con un preventivo adsorbimento di questi peptidi sulla loro superficie in modo da favorire l'adesione degli osteoblasti e stimolarne la migrazione lungo l'impalcatura del materiale stesso.

Fig.1



4. LO STATO ATTUALE IN ODONTOIATRIA

Le procedure rigenerative in chirurgia orale sono riconducibili a tre tipi:

1. la rigenerazione guidata dei tessuti (GTR) ^(10,11,12), in cui una membrana rigenerativa racchiude una camera protetta entro la quale l'osso potrà ricrescere
2. il trapianto con innesto di osso (onlay bone grafting) ⁽¹³⁾, nel quale il volume dell'alveolo viene aumentato mediante apporto di osso autologo, omologo od eterologo, alla corticale esterna dell'osso del paziente
3. le tecniche di distrazione, tutte basate sul principio della guarigione delle fratture

Laddove occorre aumentare l'osso solo trasversalmente, le zone edentule possono essere incrementate subito con la distrazione della cresta (surgical crest splitting) ⁽¹⁴⁾.

Qualora si presentasse un difetto di tipo verticale, si procede alla distrazione verticale progressiva secondo i principi delle procedure di Ilizarov per l'allungamento delle ossa lunghe che trovano applicazione in campo ortopedico ⁽¹⁵⁾.

Attualmente nel settore odontoiatrico sono stati testati numerosi materiali con lo scopo di funzionare come veicoli osteoconduttivi nella riparazione dei difetti ossei parodontali, post-estrattivi o di altra natura, agendo con un meccanismo denominato *rigenerazione guidata dell'osso*.

Per la maggior parte dei casi, i prodotti ceramici che trovano impiego nel settore odontoiatrico, sono disponibili sotto forma di particelle a varia granulometria, alcune volte associate a del collagene o ad altri veicoli che ne conferiscono l'aspetto di gel (ac. Polilattico o colla di fibrina). Queste caratteristiche rendono però svantaggiosa la loro manipolazione per la possibilità di dispersione nell'ambiente sia al momento del loro inserimento che nell'immediato periodo post-chirurgico.

Nei casi in cui si debbano ricostruire piccoli settori di zone edentule, dove siano state perse le dimensioni verticali e/o trasversali dell'osso, il biomateriale in granuli viene trattenuto in sede da membrane del tipo riassorbibile o non, fissate con particolari viti al supporto osseo con funzione di "space - making".

Piccoli blocchi di idrossiapatite o di materiale equivalente si utilizzano per riempire limitati difetti di osso alveolare perduto per cause patologiche o traumatiche.

Per lo stesso scopo possono essere impiegati piccoli frammenti di osso autologo prelevato in sedi contigue o lontane da quelle destinate al riempimento, oppure prelievi di interi segmenti ossei da adattare e fissare nelle sedi accettrici.

Tutte le metodiche summenzionate hanno l'inconveniente di presentare:

- un importante grado di riassorbimento che fornisce risultati diversi rispetto ai profili ossei ed al livello di riempimento che ci si aspetta di ottenere;
- una serie di disagi per i pazienti che devono essere sottoposti a interventi chirurgici interessanti più sedi per il prelievo di osso autologo;
- una indaginoso procedura per l'applicazione del materiale.
- lunghi tempi di procedura

5. SCOPO DELLA RICERCA

Fino ad oggi in chirurgia odontostomatologica non sono stati ancora documentati casi clinici trattati con l'uso di biomateriale fabbricato su misura del difetto che si vuole correggere.

Per questo motivo sono stati ideati blocchi di ceramica porosa realizzati nella forma specifica per essere adattata al difetto scheletrico che si vuole correggere (fig.2) fornendo così l'impalcatura necessaria per permettere la migrazione di cellule osteoformatrici e la neodeposizione di matrice mineralizzata. Sono state in seguito definite le caratteristiche ideali di questi Biomateriali ottenuti industrialmente, per ottenere i suddetti fenomeni biologici.

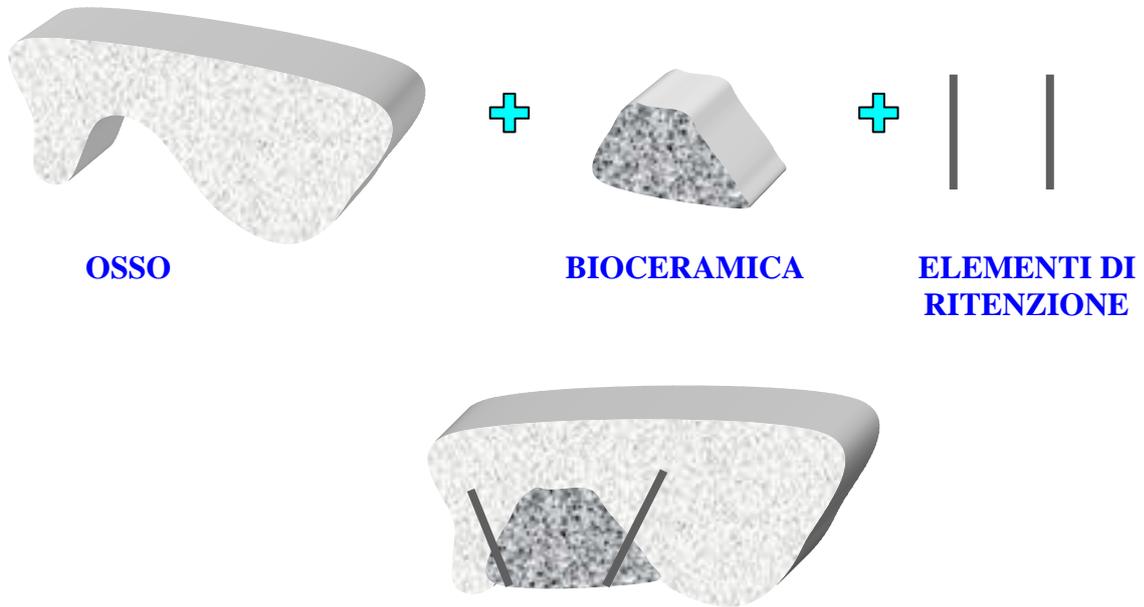
Tali dispositivi sono stati sino ad oggi realizzati per diverse applicazioni in chirurgia ortopedica, otorino- o neurochirurgia, mentre in chirurgia maxillo-facciale ed odontoiatrica non sono stati ancora documentati casi clinici trattati con l'uso di biomateriale fabbricato su misura del segmento osseo da riparare.

Lo scopo del nostro studio è proprio quello di introdurre l'applicazione in odontoiatria di dispositivi anatomicamente conformati, che presentino i seguenti vantaggi rispetto ai metodi sino ad ora utilizzati:

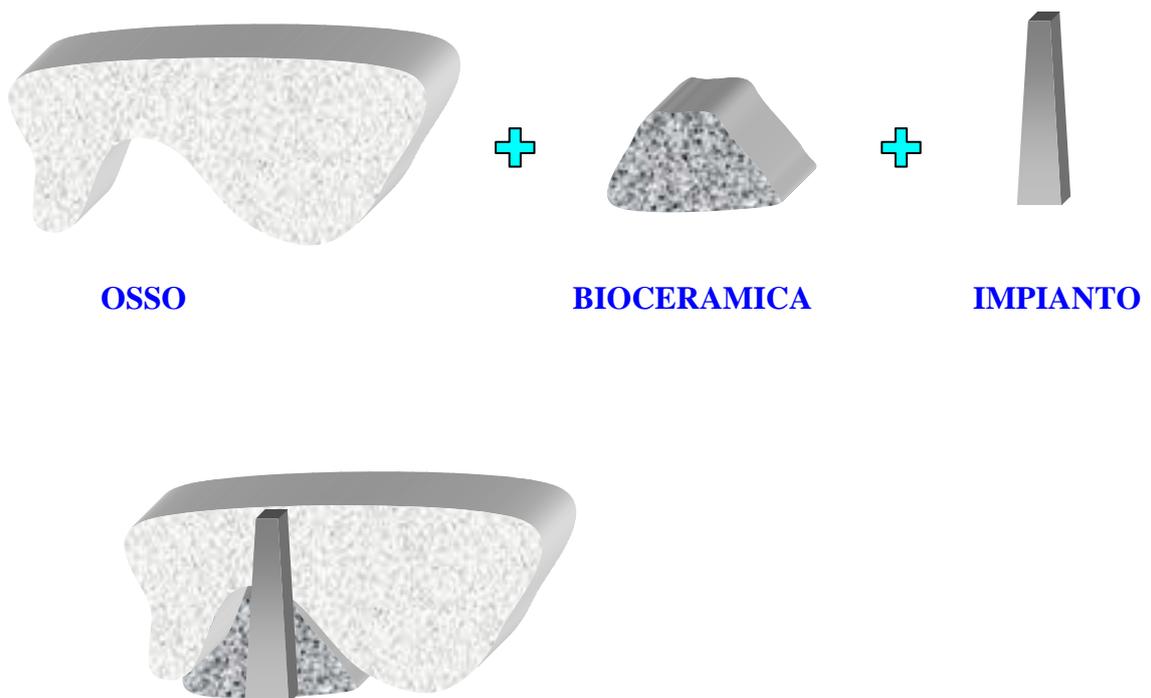
- siano *presagomati* in modo da:
 - a) adattarsi perfettamente in tutte le dimensioni al supporto osseo ricevente e,
 - b) ricostituire il profilo osseo perduto in maniera ideale e stabile;
- siano *ottimizzati* mediante “ ibridazione” con cellule osteogeniche, fattori di crescita o peptidi attivi correlati con il fenomeno dell'adesione cellulare, per ottenere più ampie possibilità di integrazione con il tessuto osseo ricevente;
- la procedura di applicazione sia semplice e miniInvasiva;
- abbiano costi di progettazione e produzione contenuti.

Fig.2

A



B



6. MATERIALI E METODI

a. Scelta del Biomateriale

I blocchi di idrossiapatite sono caratterizzati da un alto grado di porosità controllata (micro-porosità, macro-porosità e porosità interconnesse) ibridati con gel piastrinico per la produzione di fattori di crescita autologhi.

Il materiale selezionato come *scaffold* ed utilizzato nel primo paziente era caratterizzato da una porosità totale con percentuale variabile dal 40 al 70% del proprio volume. La distribuzione dei pori dello *scaffold* viene così descritta: pori > 125 micron (65-70% vol), pori in un range di 0 - 125 micron (30-35% vol), con un'alta concentrazione di pori < 25 micron (16,17).

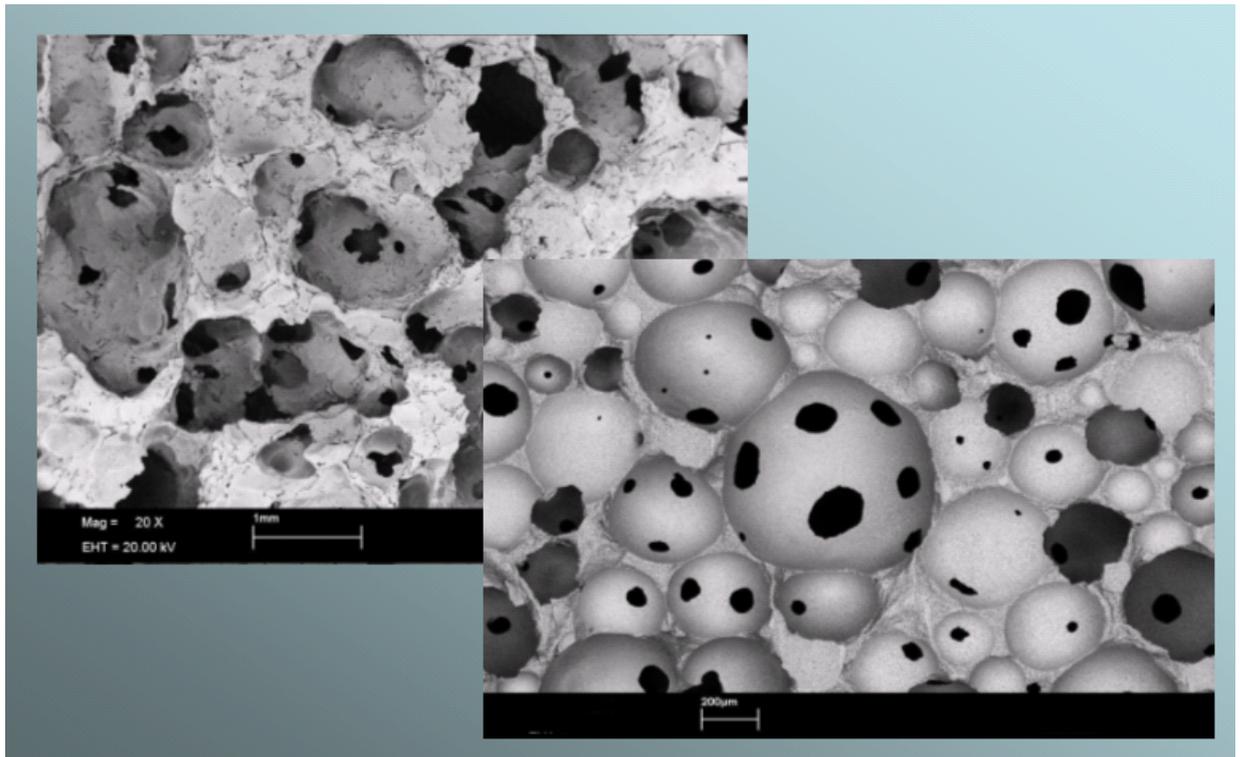
Lo scaffold veniva modellato, partendo da un blocco standard di 25x10x55mm, secondo la taglia e la forma del gap osseo; il blocco di idrossiapatite (FIN-BLOCK) veniva in tal caso gentilmente offerto dalla Fin-Ceramica Faenza S.r.l.

Per i casi trattati successivamente veniva impiegata Idrossiapatite di seconda generazione che consisteva in un materiale (range 70-90% vol) caratterizzata da un'elevata interconnessione di macro e micro – pori al fine di accrescere la migrazione vascolare e la colonizzazione cellulare nello scaffold (ENGIPORE). Anche in tali casi i materiali venivano gentilmente offerti dalla Fin-Ceramica Faenza S.r.l (fig.3,4).

b. Processing del Biomateriale

Allo scopo di favorire l'osteointegrazione del biomateriale e la colonizzazione di questo da parte di cellule mesenchimali stromali già presenti localmente, veniva approntato con la tecnica introdotta da Marx⁽¹⁸⁾ il Plasma Ricco in Piastrine (PRP). Questo preparato oltre a

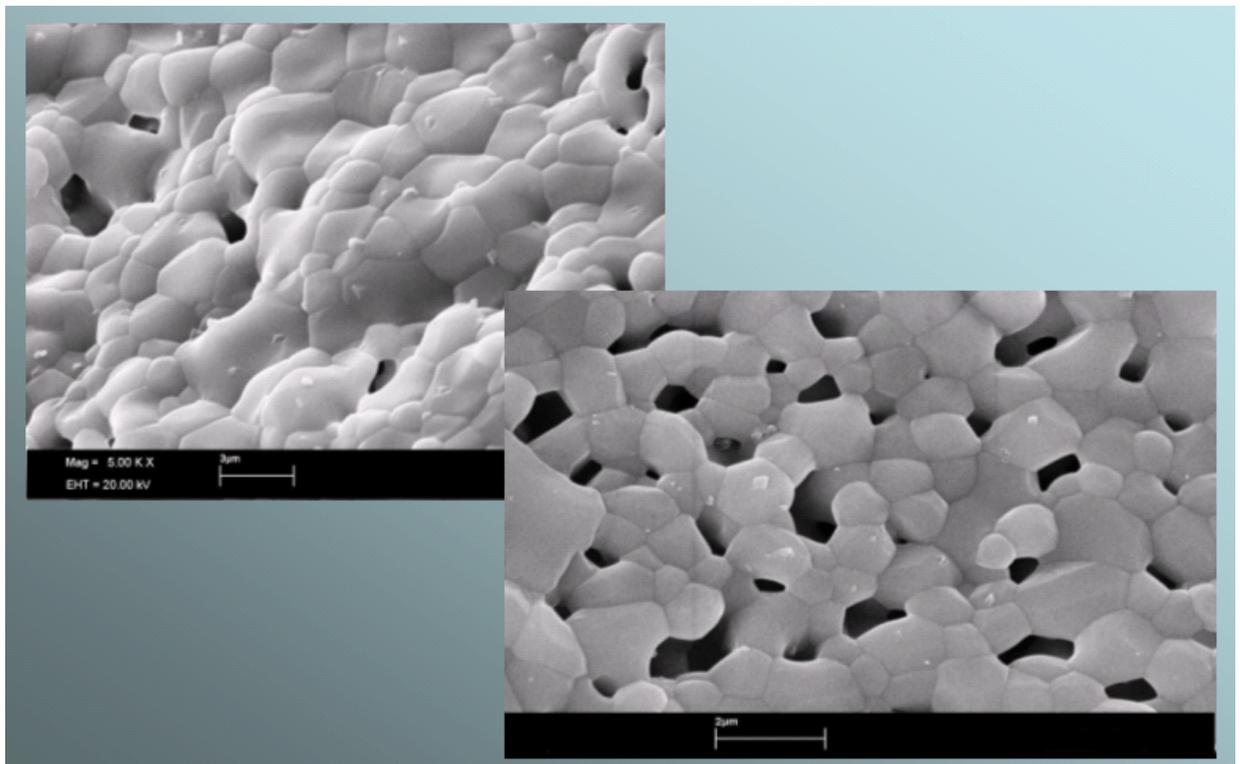
Fig.3



Finblock®

Engipore®

Fig.4



fornire una sorgente autologa di fattori di crescita favorenti la proliferazione (PDGFA, PDGFAB) di cellule mesenchimali e la vascolarizzazione (VEGF) dell'innesto, contiene alcune molecole, quali la fibronectina, ricche di sequenze RGD che favoriscono l'adesione delle cellule al biomateriale. Per questo motivo il Bio.Cer.In. veniva incubato a 37°C per 30 min. con gel piasrinico per consentire l'assorbimento delle suddette molecole alla bioceramica.

Per prevenire l'esposizione del biomateriale durante il periodo di guarigione, venivano utilizzati una serie di lembi muscolo-mucosi che consentissero un'appropriata copertura del biomateriale impiantato.

c. Fase Preparativa

Nel pianificare un protocollo operativo, la prima tappa è rappresentata dalla scelta dei pazienti destinati a tale trattamento.

E' necessario riconoscere il tipo di lesione ossea che è destinata al trattamento con *Biocerin*, cercando di classificarla in base ad un preciso criterio morfologico. In particolare sono incluse nel protocollo quel tipo di lesioni ossee che presentano almeno una parete verticale nel mascellare superiore, e due pareti nella mandibola, in modo da adattare il blocchetto di ceramica come un intarsio da incastrare nella zona della lesione. Le basi biologiche di questa scelta si basano sulla maggiore esposizione del materiale per la colonizzazione da parte di gettoni vascolari e cellule osteoformatrici.

In seguito verranno studiati i metodi di indagine ottimali per riprodurre tridimensionalmente il difetto osseo (metodiche CAD – CAM).

Da qui si procede alla costruzione di modelli tridimensionali in scala per la costruzione dei sagomati in resina o altro materiale che funziona da mascherina guida e per la realizzazione dei relativi modelli in bioceramica da innestare. Vengono testati vari tipi di materiale bioceramico,

a seconda del grado di porosità e riassorbibilità, insieme ad una eventuale “ibridazione” con peptidi attivi o cellule autologhe osteogenetiche, in modo da ottenere un compromesso che risponda a più requisiti possibili di affidabilità in termini di manipolazione ed osteointegrazione.

d. Fase Chirurgica

Il protocollo chirurgico viene approntato in modo da ottimizzare l’adattamento e la fissazione degli innesti in ceramica con o senza contemporaneo inserimento implantare.

Particolare attenzione merita l’allestimento del lembo di copertura che deve assicurare un efficace e stabile sigillo marginale per il periodo di cicatrizzazione iniziale.

1. Installazione del paziente

Il paziente è in decubito dorsale. La testa è libera.

2. Tecniche di anestesia

Si ricorrerà ad infiltrazione con anestetico contenente vasocostrittore adrenergico con diluizione 1:100.000 per l’anestesia plessica nel fornice del versante buccale e sulla fibromucosa palatale o linguale a seconda del settore interessato dal trattamento.

Inoltre, per favorire una maggiore vasocostrizione allo scopo di ridurre il sanguinamento nel campo operatorio, si potrà usare un anestetico con una diluizione minore di vasocostrittore (1:50.000) iniettato in cresta in modo da ischemizzare l’area dove si comincia l’incisione.

3. Incisione e Lembo di Accesso

L'incisione partirà dal lato interno (palatale o linguale) distante almeno 8 mm dal margine dove si stabilirà che si venga a trovare l'interfaccia Biocerin-Osso più vicina al taglio; questo per assicurare un sigillo più ampio dei tessuti in modo da non favorire l'esposizione dell'innesto durante il periodo di guarigione (fig.5).

L'incisione verrà eseguita con bisello interno corto e a spessore parziale per i primi 5 mm, poi proseguirà a spessore totale per tutta l'estensione del difetto comprendendo almeno 3 mm di osso adiacente al difetto ⁽¹⁹⁾.

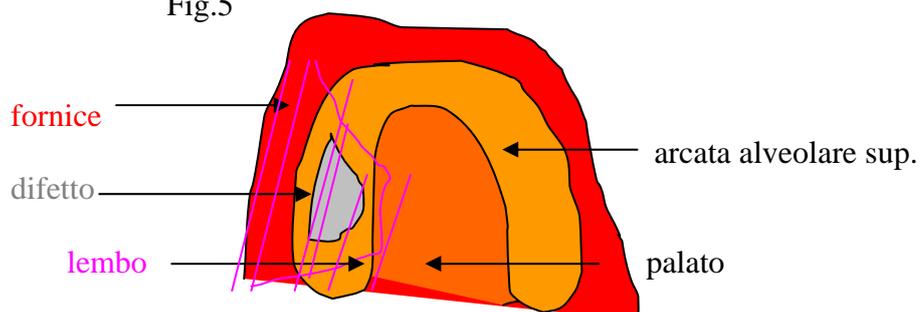
Nella zona dei fornici riprenderà lo spessore parziale dissecando le fibre muscolari in modo da ottenere un rilasciamento maggiore del lembo che al momento della chiusura che dovrà essere approntato in maniera diversa .

Il lembo verrà disegnato in maniera da rispettare i seguenti parametri:

- L'estensione, che interesserà un'area maggiore di almeno 1/3 del difetto da coprire con il Biocerin.
- La nutrizione. I tagli di scarico avranno una direzione obliqua in modo da conferire al lembo un aspetto trapezoidale con base maggiore nel fornice.

Qualora accanto al difetto vi sia la presenza di un elemento dentale, il taglio di scarico verrà eseguito in prossimità dell'elemento successivo, o in mancanza di quest'ultimo, almeno 5 mm oltre il dente.

Fig.5



4. Copertura

L'impianto del biomateriale apporta un aumento voluto dello spessore del segmento osseo in quel punto; la sua copertura, mediante il lembo di accesso, diviene dunque impraticabile. La necessità di una maggiore stoffa tissutale ci ha spinto alla ricerca di un lembo di vicinanza modificato che, dal lembo di accesso, proseguisse poi verso il lembo mio-mucoso di buccinatore.

Il lembo di copertura del biomateriale deve avere le seguenti caratteristiche:

- il peduncolo nutritizio deve essere tale da garantire un sufficiente afflusso di sangue arterioso ed un agevole deflusso di quello venoso.
- la forma e le dimensioni del lembo devono essere proporzionate a quelle del suo peduncolo ed al difetto da riparare
- l'escursione del lembo deve essere tale da non modificare l'anatomia normale dei tessuti circostanti
- la copertura del biomateriale deve essere adeguata
- la sutura del lembo deve essere praticata in assenza di tensione in corrispondenza dei margini

Cenni storici

Sazaki descriveva nel 1983 l'utilizzazione del lembo nasogenieno a spessore totale, ad isola vascolare, per il trattamento delle stenosi esofagee; successivamente riportava nel 1986 l'utilizzazione della sola porzione mio-mucosa per la ricostruzione del pavimento anteriore della bocca ⁽²⁰⁾.

Bozola nel 1989 presentava uno studio anatomico ed un'applicazione clinica del lembo mio-mucoso di buccinatore. Egli insisteva sull'esistenza di 3 peduncoli arteriosi

e come peduncolo principale, l'arteria buccale. I lembi che utilizzava erano a peduncolo posteriore, destinati alla copertura del palato ⁽²¹⁾.

Carstens, nel 1991, riprendeva lo stesso studio anatomico, ma insisteva sul ruolo importante dell'arteria e della vena facciale. Egli mostra la possibilità di un lembo ad isola vascolare pedunculato sull'arteria e la vena facciale ^(22,23,24).

Pribaz, nel 1992, riprendeva lo stesso lembo pedunculato sull'arteria facciale, che lui chiama FAMM flap (facial artery muscolo-mucosal flap). Egli mostrava la possibilità di utilizzare il lembo con un peduncolo inferiore (flusso anterogrado) o con peduncolo superiore (flusso retrogrado), potendo essere così utilizzato per la ricostruzione buccale, nasale od anche orbitarla ⁽²⁵⁾.

Anatomia del muscolo buccinatore ^(26,27,28)

E' un muscolo piatto, largo, irregolarmente quadrilatero, situato profondamente nella guancia. Tale muscolo presenta due facce e quattro bordi:

La faccia interna è ricoperta dalla mucosa orale, quella esterna è ricoperta dal ramo mandibolare, dai muscoli massetere e pterigoideo interno nella parte posteriore, dalla bolla grassosa del Bichat e dall'aponeurosi parotido-masseterina anteriormente.

Tra il muscolo buccinatore e l'aponeurosi parotido-masseterina esiste un cuscino di tessuto cellulare lasso che, in tal punto, rende la dissezione agevole.

In corrispondenza del bordo anteriore le sue fibre passano al disotto del muscolo grande zigomatico e si intrecciano con quelle del muscolo orbicolare delle labbra, portandosi al disotto.

In corrispondenza del suo bordo posteriore il muscolo buccinatore si inserisce sul rafe pterigo-mandibolare.

Il suo limite superiore corrisponde al bordo alveolare del mascellare; quello inferiore al bordo alveolare della mandibola.

Il dotto di Stenone attraversa il muscolo buccinatore in corrispondenza del 2° molare superiore, poco al disopra della porzione centrale del muscolo.

La vascolarizzazione del muscolo buccinatore è assicurata da 3 arterie:

- *L'arteria buccale*: ramo della mascellare interna, nasce in corrispondenza del muscolo pterigoideo esterno, si dirige anteriormente e in basso per raggiungere la metà posteriore del muscolo buccinatore dove prosegue parallelamente al nervo buccale. Tale arteria è considerata da alcuni autori come il peduncolo principale, ovvero il solo peduncolo del buccinatore.

- *L'arteria facciale* : dopo la sua fuoriuscita dalla ghiandola sottomandibolare, l'arteria facciale dà origine alla branca sottomentale. poi contorna la mandibola e dona dei sottili rami al muscolo massetere e al muscolo triangolare delle labbra. Proseguendo la sua ascesa, giunge in corrispondenza del muscolo buccinatore e dà origine alla arteria labiale inferiore che si dirige in avanti in corrispondenza della faccia profonda del muscolo triangolare delle labbra. A questo livello l'arteria facciale corre sulla faccia esterna del muscolo buccinatore a poca distanza dal suo bordo anteriore dove dà origine a multipli piccoli rami (da due a tre secondo Carstens). Continua il suo percorso ascendente per dare origine alla arteria labiale superiore all'altezza del muscolo grande zigomatico, si prolunga con la arteria angolare che assicura la sua anastomosi con il sistema arterioso intracranico.

- *L'arteria alveolare postero-superiore*: ramo dell'arteria mascellare interna, dona una piccola branca al livello della parte postero-superiore del muscolo buccinatore.

Le anastomosi tra queste arterie sono multiple al livello della faccia esterna del muscolo nonché tra le fibre muscolari.

Il drenaggio venoso del muscolo buccinatore è ricco: molteplici vene partono dalla faccia laterale del muscolo per raggiungere due reti di drenaggio, il plesso pterigoideo e la vena facciale che comunicano tra loro tramite la vena facciale profonda:

- il plesso pterigoideo: situato posteriormente, in alto e esternamente al muscolo buccinatore riceve la vena buccale che continua con la vena facciale profonda nonché altre vene più fini. Si riversa successivamente nella vena mascellare interna.

- La vena facciale: si prolunga nella vena angolare e segue lo stesso percorso dell'arteria facciale posteriormente a questa. Si porta lungo il bordo anteriore del muscolo massetere. Riceve al livello del bordo superiore del muscolo buccinatore la vena facciale profonda, poi differenti branche del muscolo buccinatore e la vena labiale superiore. L'esistenza di una vena labiale inferiore è controversa. La vena facciale in seguito riceve delle branche dal muscolo massetere e dalla parotide prima di contornare il bordo inferiore della mandibola dove riceve la vena sottomentale.

L' Innervazione motrice: è assicurata dal nervo facciale. Alcune branche di divisione temporali e cervicali convergono verso la bolla grassosa del Bichat e formano il plesso buccale. Qualche branca (4 o 5) giungono alla faccia profonda della bolla grassosa di Bichat e sono destinati al muscolo buccinatore.

L' Innervazione sensitiva: dipende dal nervo buccale, ramo del nervo mandibolare. Questo nervo passa tra i due capi del muscolo pterigoideo esterno e cammina affianco l'arteria buccale per raggiungere il bordo posteriore del muscolo buccinatorio.

Il muscolo buccinatore stira posteriormente la commissura labiale contribuendo alla mimica facciale.

Durante la contrazione comprime le guance contro le arcate dentarie svuotando il contenuto dei vestiboli e della guancia dilatata verso la cavità buccale, partecipando in tal senso alla masticazione e contribuendo alla formazione del bolo alimentare. Partecipa anche ad alcune funzioni fonatorie: espellendo aria attraverso l'orifizio labiale, contribuisce al soffiare ed al fischiare, risultando dunque un muscolo di fondamentale importanza nella pratica di tutti gli strumenti musicali ad aria.

In conclusione il lembo mio-mucoso di muscolo buccinatore appare logico sul piano anatomico poiché la vascolarizzazione di questo muscolo è di III tipo secondo Mathes e Nahai, permettendo un prelievo sicuro sul peduncolo facciale (anteriore), nonché su quello buccale (posteriore) ⁽²⁹⁾.

La tecnica di prelievo è facile, rapida, non necessita di un altro campo operatorio e può essere realizzato anche nei soggetti in cattive condizioni generali.

Questo lembo apporta una quantità soddisfacente di mucosa per la copertura del biomateriale impiantato in corrispondenza dei segmenti ossei anteriori e posteriori sia superiormente che inferiormente.

e. Follow Up

Si presta attenzione ad evitare il carico sulla zona operata per una fase sufficiente a garantire una buona osteointegrazione che viene documentata da periodici controlli radiografici ed intervallati prelievi bioptici.

7. RISULTATI

Allo stato attuale lo studio prevede complessivamente 4 pazienti trattati con la procedura Bio.Cer.In.

In tutti i casi sono stati ottenuti risultati soddisfacenti in merito alla ricostruzione anatomica e funzionale delle creste mascellari mediante l'inserimento di blocchi di ceramica di diversa sagomatura e spessore.

Al momento dell'inserimento dei blocchi, le radiografie nell'immediato post-operatorio mostravano la presenza di spazi tra l'osso e l'interfaccia di ceramica (fig6b).

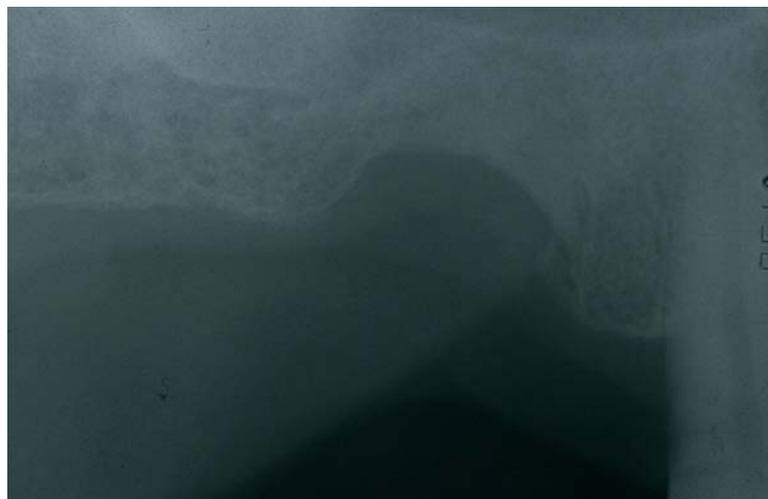


Fig.6a

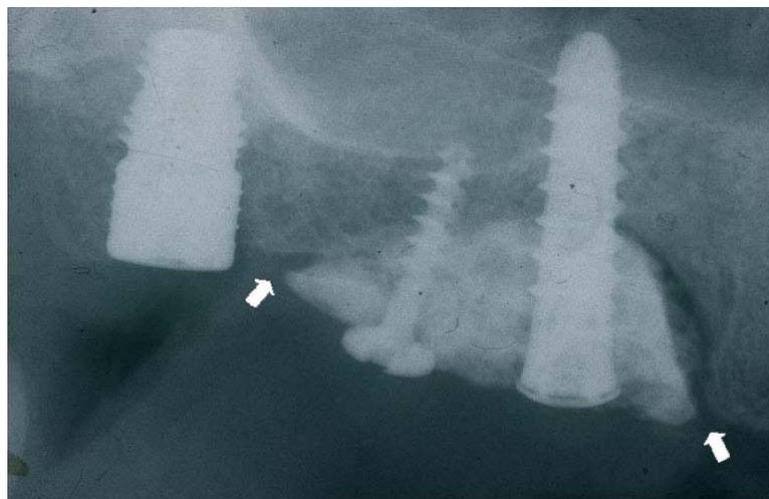
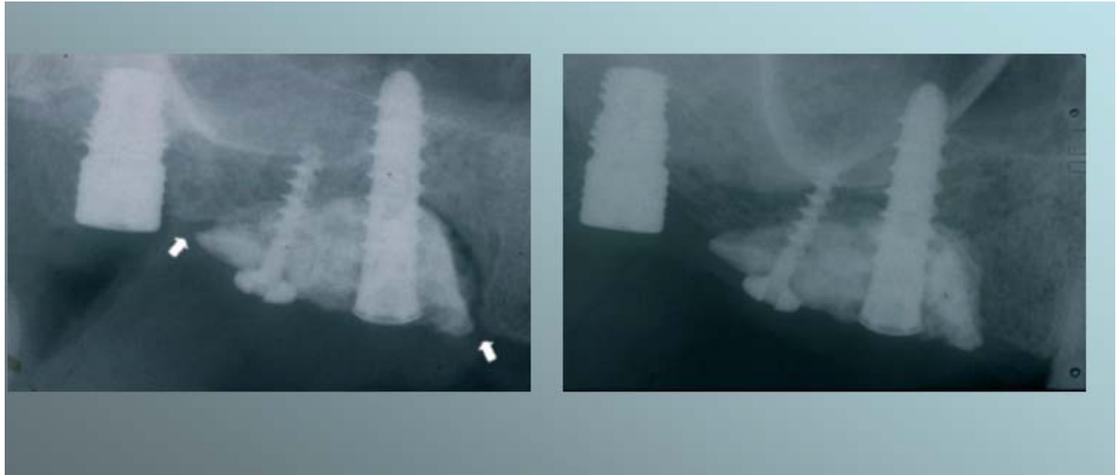


Fig.6b

Circa due mesi dopo le radiografie intra-orali mostravano la completa giustapposizione dell'osso al materiale impiantato (fig.7).

L'analisi istologica è stata sviluppata solo nel primo caso e ha mostrato l'adattamento dell'osso alla superficie bioceramica.

Fig.7



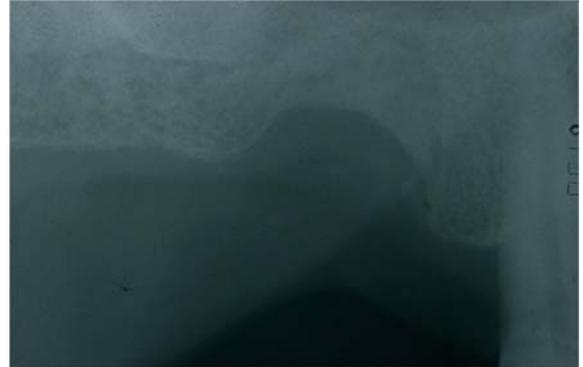
Tutti i pazienti, attualmente e con un follow-up che varia dai 6 anni a 8 mesi, non presentano fastidi; la mucosa appare sana e ben formata e nei pazienti in cui contestualmente sono stati inseriti gli impianti, questi appaiono tutti osteointegrati senza segni radiografici od oggettivi di sopravvenuta peri-implantite.

8. ICONOGRAFIA

CASO I



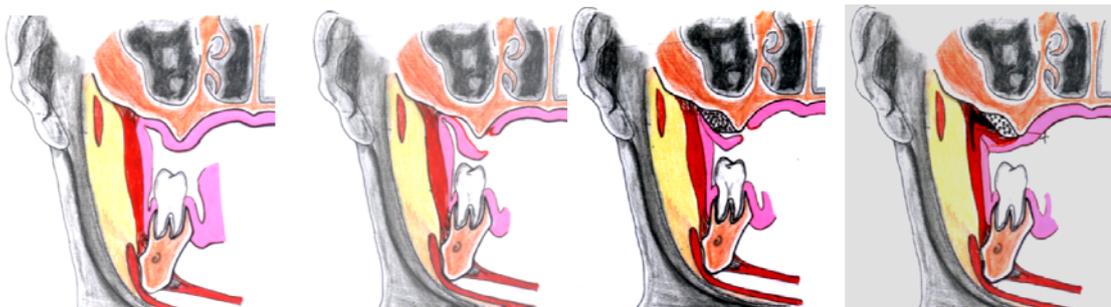
L'emiarcata superiore destra mostra
il difetto alveolare



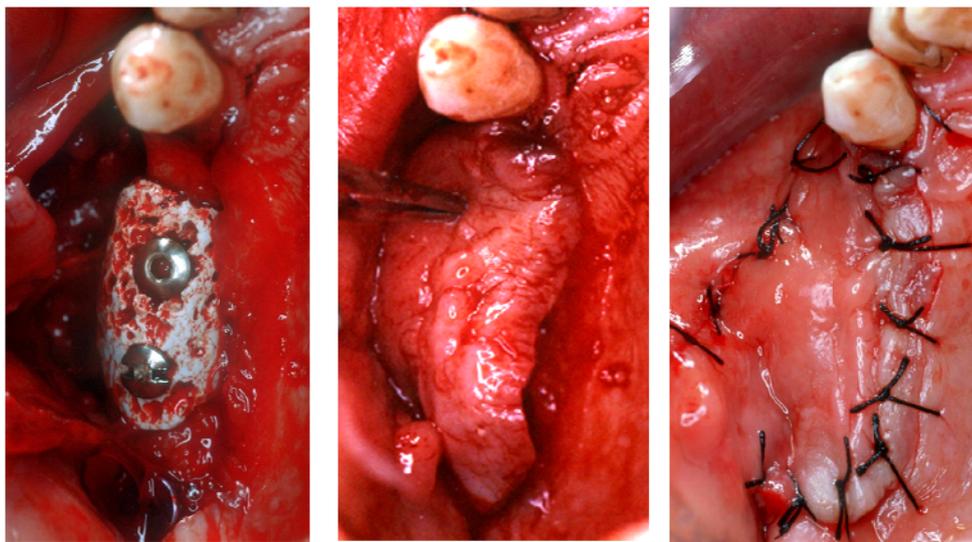
Radiografia endorale pre-operatoria: è
presente un'area di riassorbimento osseo
dopo l'avulsione traumatica di 1,4 e 1,5



Aspetto intra-operatorio del Bio.Cer.In.

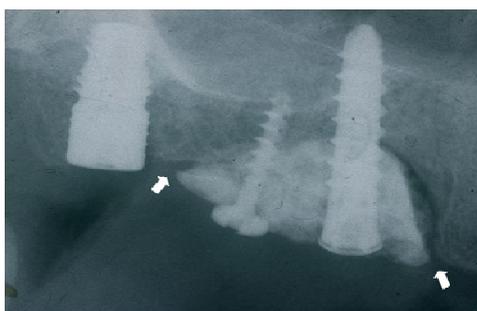


Il lembo muscolo-mucoso di buccinatore viene scolpito ed avanzato a coprire la bioceramica

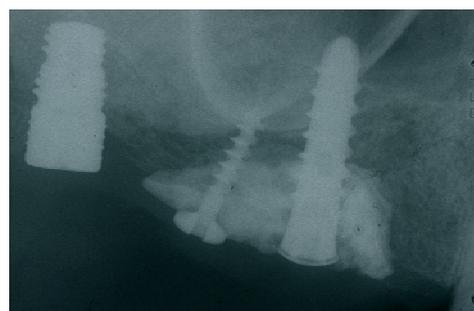


La copertura è agevole consentendo un'adeguata protezione del sito d'innesto.

Il lembo è suturato senza alcuna tensione sui margini



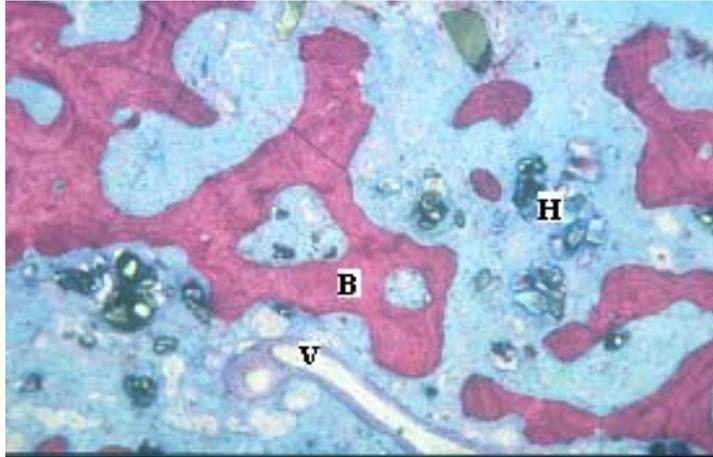
Spazi presenti nell'immediato post-operatorio a livello dell'interfaccia osso-bioceramica



Completa giustapposizione d'osso a sulle superfici di bioceramica a due mesi dopo l'intervento

Radiografia post-operatoria eseguita due anni dopo che mostra la completa corticalizzazione della cresta ossea attorno al blocco di bioceramica ed agli impianti



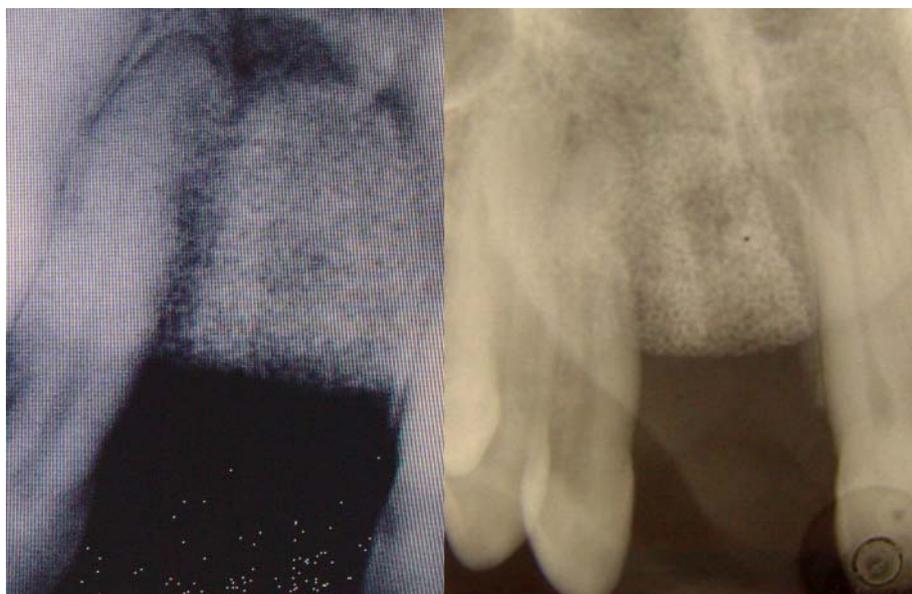
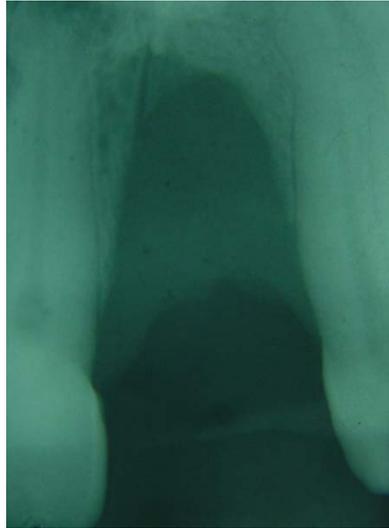


Campione biotico prelevato all'interfaccia Bio.Cer.In. – osso, dopo sei mesi. Notare la presenza di vasi (V), osso in formazione (B) e particelle di idrossiapatite (H) in fase di degradazione-assorbimento. Non si nota presenza di tessuto infiammatorio. Colorazione ematossilina-eosina.

(Ingrandimento originale 100X)



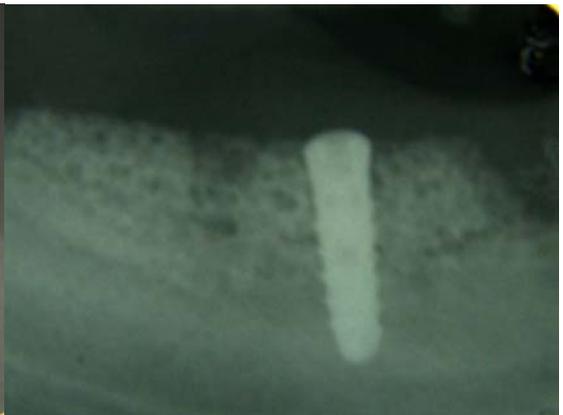
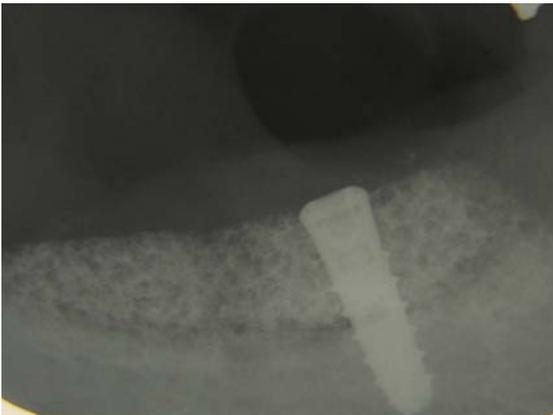
CASO II



CASO III



CASO IV



9. DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La ricostruzione predicibile dei difetti alveolari rappresenta tutt'oggi un notevole challenge per il chirurgo ricostruttore.

La ricostruzione mascellare ha implicato molteplici tecniche rigenerative, tuttavia, quando queste procedure sono impiegate in riparazioni ossee, il successo di tali metodi è ancora limitato, causa i problemi concernenti la disponibilità del materiale d'impianto, l'insufficiente quantità d'osso a disposizione, lo stato patologico del sito donatore, l'immunogenicità (fig.7).

Fig.7

Bone Substitutes	Advantages	Disadvantages
Autologous	<ul style="list-style-type: none">• Biological risk free• Osteoconductive• Osteoinductive• Osteogenic	<ul style="list-style-type: none">• Surgical trauma• Donor-site morbidity• Graft's volume limits
Omologous	<ul style="list-style-type: none">• Specie-specific• Osteoconductive• Osteoinductive	<ul style="list-style-type: none">• Immunogenicity• Disease Transmission• Costs
Eterologous	<ul style="list-style-type: none">• Osteoconductive	<ul style="list-style-type: none">• Disease Transmission• Costs
Alloplasts Synthetic	<ul style="list-style-type: none">• Biological risk free• Osteoconductive	<ul style="list-style-type: none">• Osteointegration's cynetics

Lo scopo dello studio è di introdurre un'altra soluzione per la rigenerazione dell'osso mascellare che riduca i costi ed il trauma chirurgico per i pazienti.

I materiali alloplastici eliminano tutti i problemi sopradescritti, tuttavia alcuni problemi relativi alla cinetica dell'integrazione ossea restano irrisolti.

I biomateriali come l'Idrossiapatite ed le ceramiche in Calcio Fosfato sembrano rappresentare la migliore alternativa agli innesti d'osso.

La superficie mineralizzata della bioceramica è osteoconduttiva per le cellule osteogeniche, servendo da “primer” per l’avvio della osteogenesi.

Un significativo miglioramento in questo campo è rappresentato dall’associazione tra Idrossiapatite (HA) porosa e cellule stromali del midollo d’osso autologo (ABMSC), ove le proprietà intrinseche delle bioceramiche sono integrate con le proprietà delle cellule osteoprogenitrici che consentono la formazione di tessuto osseo vitale, vascolarizzato e biomeccanicamente funzionale ^(1,30,31).

La possibilità di utilizzare cellule formanti tessuto osseo autologo, adese ad un carrier stabile, anatomicamente conformato e biologicamente attivo rappresenterebbe una condizione ideale; per tale motivo nel primo tentativo veniva utilizzato un carrier d’idrossiapatite in associazione al PRP quale substrato di fattori autologhi di crescita e proteine di adesione, senza ricorrere ad una popolazione espansa di ABMSC, preventivamente ibridata con la ceramica porosa. Tale scelta veniva motivata dalla convinzione che una sorgente di cellule locali osteogeniche sarebbe stata sufficiente ad invadere e proliferare in carriers osteoconduttivi nei difetti di limitata estensione.

È ad ogni modo importante ricordare che tale potenziale è condizionato dall’età in quanto è stato dimostrato che la percentuale di cellule staminali nei tessuti diminuisce con l’aumentare degli anni ⁽⁹⁾.

L’utilizzo dell’idrossiapatite è stata oggetto di discussioni a causa della sua scarsa riassorbibilità.

Uno studio recente ha mostrato un unico pattern di meccanismi di integrazione e disintegrazione dell’impianto di idrossiapatite anatomicamente conformato, in concomitanza alla crescita d’osso ⁽⁵⁾.

Tale studio ha infatti dimostrato che all’adattamento dell’osso all’idrossiapatite segue la frattura di quest’ultima, da cui risulta un aumento delle superfici della bioceramica che accelera i processi osteoconduttivi e di riassorbimento.

Al momento sono stati trattati soltanto limitati difetti dei mascellari superiori ed inferiori, tuttavia le continue ricerche al fine di ottenere un biomateriale con un ottimo compromesso in termini di biomimetismo, stabilità, osteoconduttività e riassorbibilità, rappresenta il challenge maggiore nel trattamento delle superfici ossee estese, specialmente in vista di una evoluzione dei materiali d'impianto di bioingegneria utilizzati in associazione con cellule autologhe osteogeniche.

RINGRAZIAMENTI

Si desidera esprimere riconoscenza

- all'amico e collega Stefano Petti per aver contribuito all'idea di questa ricerca, all'esecuzione materiale della stessa, nonché al supporto professionale offerto nella pratica delle procedure operative previste,
- al dott. P. Trisi per aver messo a disposizione la fotomicrografia del I caso trattato,
- alla Società Fin Ceramica Faenza S.r.l. per l'appoggio tecnico

BIBLIOGRAFIA

1. Ohgushi H, Caplan AI: Stem Cell Technology and Bioceramics: From Cell to Gene Engineering. *J Biomed Mater Res* 48(6): 913-927, 1999
2. Anselme K: Osteoblast adhesion on biomaterials. *Biomaterials* 2000 Apr;21(7):667-81.
3. Toquet J, Roahanizadeh R, Guicheux J, Couillaud S, Passuti N, Daculsi G, Heymann D.: Osteogenic. Potential in vitro of human bone marrow cells cultured on macroporous biphasic calcium phosphate ceramic. *J Biomed Mater Res.* 1999 Jan;44(1):98-108.
4. Maddox E, Zhan M, Mundy GR, Drohan WN, Burgess WH: Optimizing human demineralized bone matrix for clinical application. *Tissue Eng* 6(4): 441-448, 2000
5. Boyde A, Corsi A, Quarto R, Cancedda R et Bianco P: Osteoconduction in Large Macroporous Hydroxyapatite Ceramic Implant: Evidence for a Complementary Integration and Disintegration Mechanism. *Bone* 24(6): 579-589, 1999
6. Gauthier O, Bouler JM, Aguado E, Pilet P, Daculsi G: Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics: influence of macropore diameter and macroporosity percentage on bone ingrowth. *Biomaterials* 1998 Jan-Feb;19(1-3):133-9.
7. Martinetti R, Belpassi A, Nataloni A, Biasini V, Martignani G: Idrossiapatite porosa sintetica per sostituzioni ossee: Caratterizzazione Chimico-Fisica. *Biomateriali: Atti del Congresso*; 51-55, Roma Enea, 1999
8. Martinetti R, Belpassi A et al.: Key Engineering Materials Vols. 192-195 (2001), 507-510 – Proceeding of the 13th Int. Symp. On Ceramics in Medicine, Bologna, Italy, 22-26 Nov. (2000), 507-510 © 2001 Trans Tech Publications, Switzerland
9. Caplan AI: Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 9: 641-650, 199
10. Nyman S, Lindhe J, Karring T et Rylander H: New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* 9: 290-296, 1982

11. Buser D, Dula K, Hirt HP et Bertold H: Localized ridge augmentation using guided bone regeneration. In: Buser D, Dahlin C et Schenk RK, eds. Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry. Berlin; Quintessence: 1994; 189-233
12. Chin M: Distraction Osteogenesis in Maxillofacial Surgery. In Lynch SE, Genco RJ, Marx RE (eds). Tissue Engineering – Application in Maxillofacial Surgery and Periodontics. Illinois; Quintessence Publishing Co, Inc, 1999; 147
13. Arun K. Garg: Grafting Materials in Repair and Restoration. In Lynch SE, Genco RJ, Marx RE, (eds). Tissue Engineering – Application in Maxillofacial Surgery and Periodontics. Illinois; Quintessence Publishing Co, Inc, 1999; 83
14. Scipioni A, Bruschi GB, Calesini G: The edentulous ridge expansion technique: A five-year study. Int J Periodont Rest Dent 14: 451-459, 1994
15. Ilizarov GA: The principles of the Ilizarov method. Bull Hosp Joint Dis Orthop Inst 48: 1-11, 1988
16. Petti S, Nunziata CA, romagnolo G, Mechelli G: “Bioactive Ceramic Inlay” (Bio.Cer.In.): metodica chirurgica e ripristino morfo-volumetrico del processo alveolare con inserimento simultaneo di un impianto: descrizione di un caso clinico. Quintessenza Internazionale; 2004; 2: 19-26
17. Petti S, Nunziata CA: use of ceramic blocks for reconstruction of atrophic alveolar crests. 9th Seminar and Meeting on: Ceramics, Cells and Tissues - materials for tissues chemistry and microstructure: the role for ceramics. September 28 – October 1, 2004. Abstract book: 286-292. ISTECCNR, Faenza
18. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Scimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR: Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 85: 638-646, 1998
19. Nunziata CA, Petti S, Romagnuolo G, Mechelli G: Lembo miomucoso di buccinatore: descrizione di un caso in chirurgia orale osteoaccrescitiva. Annali di Chirurgia, LXXII, Suppl. 1; 228, 2001

20. Sazaki TM, Baker HW, McConnell DB, Yeager RA, Vetto RM. Cheek Island Flap for Replacement of Critical Limited Defects of The Upper Aerodigestive Tract. *The American Journal of Surgery* 1986; 152; 435-7:
21. Sazaki TM, Standage BA, Baker HW, McConnell DB, Vetto RM. The Island Cheek Flap: Repair of Cervical Esophageal Stricture And New Extended Indications. *The American Journal of Surgery* 1984; 147; 650-3.
22. Bozola AR, Gasques JA, Carriquiry CE, de Oliveira MC. The Buccinator Myomucosal Flap: Anatomic Study and Clinical Application. *Plastic and Reconstructive Surgery* 1989; 84; 250-7.
23. Carstens M, Stofman G, Hurtwitz D, Futrell J, Patterson G, Sotereanos G. The Buccinator Myomucosal Island Pedicle Flap: Anatomic Study and Case Report. *Plastic and Reconstructive Surgery* 1991; 88; 39-50.
24. Uglesic V, Virag M. Musculomucosal nasolabial Island Flaps for reconstruction of Mouth. *British Journal of Plastic Surgery* 1995; 48; 8-10.
25. Pribaz J, Stephen W, Cuspot, Giffond G.: A new intraoral flap facial artery musculomucosal (FAMM) flap. *Plast Reconstr Surg* 1992; 90 (3): 421-429
26. Rouvière H, Delmas A. *Anatomie humaine descriptive, topographique et fonctionnelle. Tome 1: tête et cou*, 11^e édition, Masson 1974.
27. Putz R, Pabst R, in SOBOTTA. *Atlas d'Anatomie Humaine. Tome 1: Tête, cou, membre supérieur*, 3^e édition française, Editions Médicales Internationales, 1994.
28. Ricbourg B. Vascularisation des lèvres. *Chirurgie des lèvres*; J. Lévignac; Masson 1990, 24-26.
29. Mathes SJ, Nahai F.: *Clinical Atlas of Muscle and Musculocutaneous Flaps*. The CV Mosby Company. St Louis-Toronto-London 1979
30. Marcacci M, Kon E, Quarto R, Kutepov SM, Mukhachev V, Lavroukov A, Cancedda R: Repair of Large Bone Defects by Autologous Human Bone Marrow Stromal Cells. In *Key Engineering Materials Vols. 192-195; 1053-1056*, 2001. © 2001 Trans Tech Publications, Switzerland

31. Mastrogiacomo M, Scaglione S, Martinetti R, Dolcini L, Beltrame F, Cancedda R, Quarto R. Role of scaffold internal structure on in vivo bone formation in macroporous calcium phosphate bioceramics. *Biomaterials*. 2006 Jun;27(17):3230-7. Epub 2006 Feb 20.