

ORIGINAL ARTICLE

The use of a collagenated porcine cortical lamina in the reconstruction of alveolar ridge defects. A clinical and histological study.

Roberto ROSSI¹, Davide RANCITELLI^{2*}, Pier P. POLI²,
Marco RASIA DAL POLO², Ulf NANNMARK³, Carlo MAIORANA²

¹University of Rome "Sapienza", Rome, Italy; ²Implant Center for Edentulism and Jawbone Atrophies, Maxillo-Facial Surgery and Odontostomatology Unit, Fondazione Cà Granda IRCCS, University of Milan, Ospedale Maggiore Policlinico, Milan, Italy; ³Institute of Maxillofacial Surgery, the Sahlgrenska Academy Gothenburg University, Gothenburg, Sweden

*Corresponding author: Davide Rancitelli, Implant Center for Edentulism and Jawbone Atrophies, Maxillofacial Surgery and Odontostomatology Unit, Fondazione IRCCS Cà Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Via della Commenda 10, 20122 Milan, Italy. E-mail: davide.ranci@gmail.com

ABSTRACT

BACKGROUND: Alveolar ridge reconstruction by means of resorbable and non-resorbable membranes has been proposed to increase the hard tissue volume in deficient sites. The purpose of this study was therefore to clinically and histologically evaluate the use of collagenated porcine bone lamina in case of horizontal and vertical bone augmentation procedures in conjunction with particulate porcine xenograft.

METHODS: Overall, 8 partially edentulous patients (6 females and 2 males) with a mean age of 45 years requiring bone regeneration procedures to achieve a prosthetically driven implant placement were enrolled. All ridge defects were augmented using a xenogeneic cortical bone barrier in combination with particulate heterologous bone. Bone biopsies were collected during the re-entry procedure.

RESULTS: A total of 15 implants were placed both simultaneously or in a staged approach in the augmented sites. No complications occurred during the rehabilitation. Histologically, the bone lamina was widely vascularized and integrated with the surrounding soft tissues and the native bone. The presence of osteoclastic lacunae suggested an active remodeling of the particulate graft and a gradual substitution with the newly formed bone.

CONCLUSIONS: Alveolar reconstruction by means of the collagenated cortical lamina gave promising clinical and histological results. The rigidity and the slow resorption pattern allowed for the blood clot protection even in case of vertical defects, avoiding at the same time the re-entry surgery for its removal.

(Cite this article as: Rossi R, Rancitelli D, Poli PP, Rasia dal Polo M, Nannmark U, Maiorana C. The use of a collagenated porcine cortical lamina in the reconstruction of alveolar ridge defects. A clinical and histological study. Minerva Stomatol 2016;____)

Key words: Bone and bones - Regeneration - Bone substitutes - Dental implants - Histology.

The modern implantology often requires reconstructive procedures to satisfy the esthetic and functional demands of the patients. The purpose of surgical therapies is to restore pre-pathologic hard and soft tissue conditions allowing for a prosthetically driven implant placement. This can be obtained with the use

of tissue substitutes including heterologous bone and collagen matrices reducing at the same time the morbidity associated to harvesting procedures.¹ Several approaches have been proposed in the last decades, including guided bone regeneration (GBR)^{2,3} by means of resorbable and non-resorbable membranes.

Indeed, a recent retrospective study on 192 implants placed in conjunction with GBR procedures with a mean follow-up of 6 years reported a cumulative survival rate of 95.6%. No statistically significant differences were found when considering the source of the graft, the type of membranes used and the timing of implant placement with respect to the bone regeneration procedure.⁴ Further, it is well established in literature that both cemented and screw-retained prosthesis guarantee optimal results in terms of survival and success rates.⁵

Xenogeneic hydroxyapatite of bovine origin is a well-documented grafting material.⁶ It has osteoconductive properties and is incorporated in the bone tissue similarly to autogenous bone grafts, as demonstrated in histological clinical studies. However, it does not seem to be affected by osteoclasts activity and remodeling and, thus, it remains in the tissue, possibly over the lifetime of the patient.⁷ One plausible explanation is the deproteinization process of the bovine bone during the preparation of the material that depletes the bone from collagen. The mechanism of osteoclastic resorption is not fully understood, however it might be possible that collagen may induce adhesion of osteoclasts.⁸ The essential criteria to reach the desired bone regeneration are the stability of the graft and the protection of the blood clot from the soft tissues migration in the newly formed tissue. Nowadays, the use of resorbable membranes has become the treatment of choice due to high manageability properties and for the low risk of superinfection in case of early exposure. Collagen has several desirable advantages, including its hemostatic, chemotactic, and cell adhesion functions and has yielded favorable results in clinical trials evaluating its effect in GBR procedures. On the other hand, in such membranes, the space-maintaining effect is lacking, due to the rapid resorption time and the absence of rigidity.⁹ Indeed, bioabsorbable barriers undergo a fast biodegradation by enzymatic activity of macrophages and polymorphonuclear leucocytes resulting in a poor membrane resistance to collapse, al-

lowing undesirable cell types to enter the secluded wound area. For this reason, resorbable membranes are not adequate for vertical GBR and imply the use of non-resorbable devices including dense-polytetrafluoroethylene (d-PTFE) membranes and titanium meshes. The drawbacks related to these devices are the high incidence of exposure, which could dramatically compromise the final outcome of the surgical operation. The employing of these devices entails a reentry surgery with an extended flap for the removal. Moreover, it has been demonstrated clinically and histologically that a layer of connective tissue surrounding the regenerated bone has been observed particularly when titanium meshes were used.¹⁰ Cell occlusiveness is an essential membrane property in terms of excluding epithelial cells from the area of bone regeneration. However the penetration of nutrients through the barrier membrane is almost of utmost importance for successful regeneration. The innovative use of a collagenated porcine cortical barrier seems to have different clinical advantages, including: 1) the long-term stability of the membrane, which allows to maintain the desired volumes during the healing time for bone formation and ridge remodeling; 2) the plastic consistency, which is mandatory to obtain the vertical reconstruction; 3) the absence of a second re-entry surgery for its removal; 4) the quality of integration with the native bone and the appositional graft; 5) the second intention healing with keratinized mucosa in case of exposure, decreasing the risk of infections; 6) the poor presence of connective tissue over the regenerated bone.¹¹ Although these clinical advantages, there is still a lack of evidence in literature with regards to histological evaluations. To date there are no randomized controlled clinical studies investigating this technique: promising results have only been reported in case studies.¹¹⁻¹⁴

The purpose of this study was therefore to clinically and histologically evaluate the use of a collagenated porcine bone lamina in case of lateral and vertical bone augmentation procedures in conjunction with porcine-derived bone particles.

Materials and methods

Study sample

The present pilot study included 8 patients (6 females and 2 males) with a mean age of 45 years. Inclusion criteria included the need of implant treatment with one or more implants; the presence of a localized bone defect, which might preclude implant placement and/or compromise the expected aesthetic outcome; more than 18 years of age. Exclusion criteria included the presence of infection at the site, and any general medical condition or medication that precluded oral surgery. A signed informed consent to participate in the study was obtained from all the patients. Clinical and radiographic examinations consisting of intra-oral radiographs, orthopantomograms, and in some cases with cone-beam computed tomography (CBCT) scans were conducted during the pre-operative planning phase. The study was conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association Declaration of Helsinki.

Biomaterials and fixation devices

The biomaterials used were all approved by authorities and are commercially available for the indications related to the present study. The bone graft consisted of a porcine-derived collagenated bone (MP3 OsteoBiol®, TecnoSs Srl, Giaveno, Turin, Italy) whereas the membrane consisted of a porcine-derived collagenated cortico-cancellous shield (Lamina Curva 35 x 35 x 1 mm, OsteoBiol®, TecnoSs Srl). The membrane is a soft cortical lamina derived from cortical porcine bone, with a plastic consistency. The membrane can be shaped each time with sterile scissors to reach the desired size, hydrated in sterile physiological solution until the desired plasticity is acquired, and adapted to completely cover the grafting site. Non resorbable titanium pins (MC Bio Srl., Lomazzo, Como, Italy) were used to secure the lamina have cone design including a retaining harpoon shape and are 4 mm long.

Surgical procedure

Each patient was given proper oral hygiene instructions and a professional oral hygiene treatment. At the end of the initial therapy, before starting the surgical procedures, the patients demonstrated a proper plaque control. As none of the patients referred penicillin allergy, the antibiotic therapy consisted of 2 g of amoxicillin clavulanate (Augmentin®, Glaxo-SmithKline S.p.A., Verona, Italy) one hour before the surgery and 1 g twice daily for 7 days. Patients were also asked to make rinses with chlorhexidine 0.2% (Dentosan®, Recordati S.p.A., Milan, Italy) three times a day starting from one week before the surgery up to the sutures removal.

After rinsing with a 0.2% chlorhexidine-digluconate solution, before the incision, 4 mg of dexamethasone phosphate (Soldesam®, Laboratorio Farmacologico Milanese s.r.l., Varese, Italy) were intramuscularly injected to reduce the post-operative swelling. Local anesthesia was induced by infiltration with articaine/epinephrine 1:100,000. A full thickness flap with a midcrestal incision on the alveolar crest was performed and extended intrasulcularly to the buccal aspects of the adjacent teeth and was elevated to expose the bone defects. One or two vertical releasing incisions were positioned on the distobuccal line angle of the distal and mesial tooth, extending far beyond the mucogingival junction. The flap was subsequently released by means of a periosteal dissection (Rehremann incisions) to provide a tension-free primary closure. The cortical bone surface was perforated in multiple sites with a small round bur to induce bleeding from the marrow vascular spaces to favor the revascularization of the graft. Subsequently, a pre-hydrated deproteinized porcine bone substitute was placed and adapted to the defect in order to recreate a proper ridge volume contour. The cortical bone matrix was then shaped and trimmed according to the anatomical characteristics and secured over the grafting material using two or more fixation pins on the buccal and oral aspect. To avoid direct contact, approximately 1 mm of space was maintained near the adjacent teeth.



Figure 1.—Clinical view of the initial situation before the initial preparation therapy.

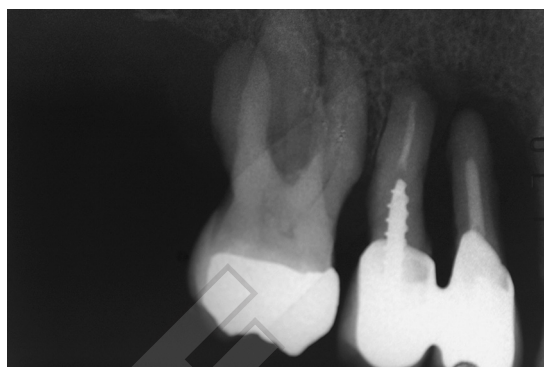


Figure 2.—Periapical radiograph. The first and second upper right premolar and the first upper right molar were considered hopeless teeth.

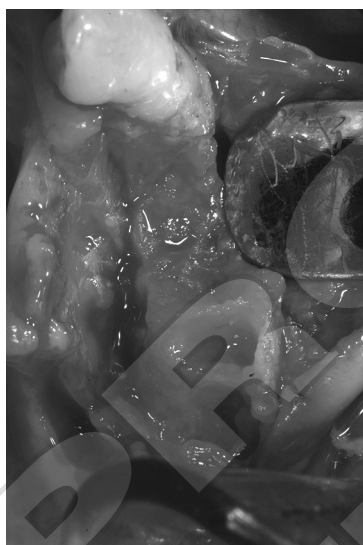


Figure 3.—Occlusal view of the defect after the extractions.



Figure 4.—Mesio-distal extension of the defect.

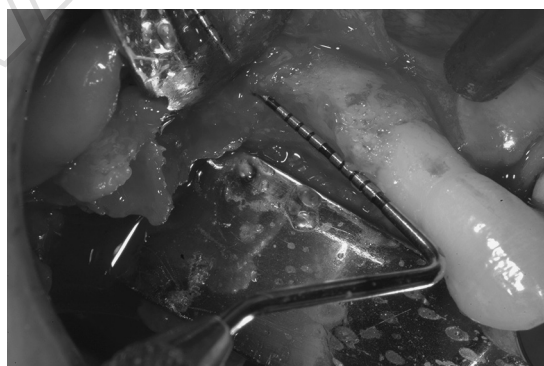


Figure 5.—Vertical extension of the defect.

The buccal and oral flaps were readapted and the surgical wound was sealed with a combination of mattress and interrupted sutures (Gore-tex® CV5, Goremedical, Flagstaff, AZ, USA). Following surgery, patients were instructed to rinse with 0.2% chlorhexidine digluconate three times daily for at least two weeks. To reduce swelling, non-steroidal anti-inflammatory drugs were prescribed. The sutures were removed 14 days post-surgery. The healing period was uneventful, and primary healing was observed in all cases. In case of a staged implant approach, a CBCT scan was then acquired to plan the implant positions (Figures 1-13).

Specimen collection

Depending on the type of the defect, the second surgical phase was carried out after 6 to 12 months. A 6-month healing time was adopted in case of a prevalent horizontal defect (Class I

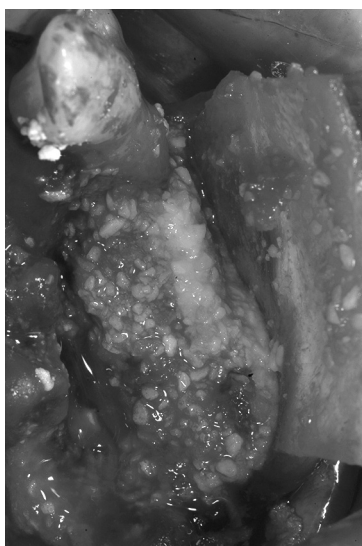


Figure 6.—Alveolar ridge reconstruction by means of particulated porcine-derived bone graft and the cortical lamina fixed on the buccal aspect.



Figure 7.—Cortical lamina shaped and trimmed above the graft.

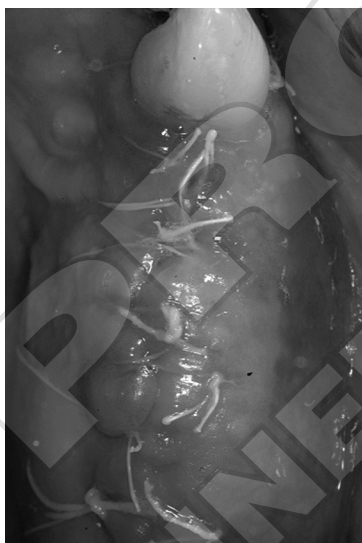


Figure 8.—Primary intention wound healing after two weeks.

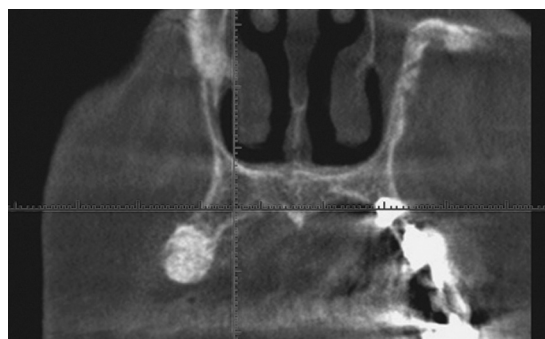


Figure 9.—Different projections of the postoperative CBCT scan after 12 months. The graft forming the new anatomy is clearly recognizable.

according to Seibert classification),¹⁵ whereas a 12-month period was awaited when the main component was vertical (Class II to III).

During the reentry procedure, a mucoperiosteal flap was elevated and the ridge exposed. The fixation tacks were generally removed and the biopsy specimens were harvested from the neighboring augmented area in case of a si-

multaneous approach; conversely, in case of a staged implant placement, bone biopsies were collected in a midcrestal position at the implant

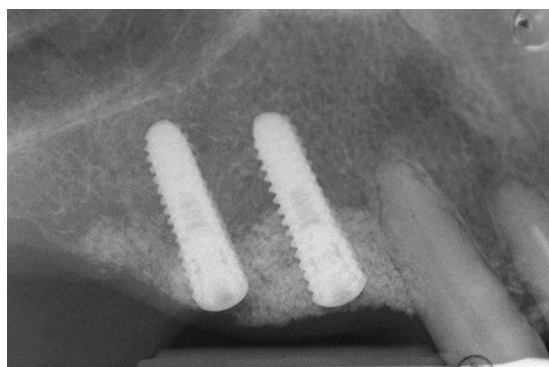


Figure 10.—Periapical radiograph of the implants inserted in the regenerated surgical site after 12 months from the bone regeneration.

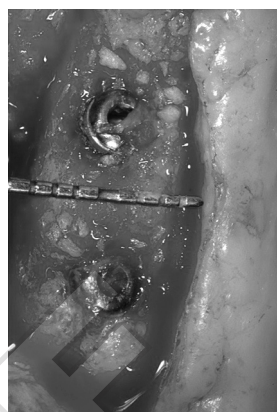


Figure 11.—Re-entry surgery after 4 months from the implant placement.



Figure 12.—Apically repositioned flap with pedunculated flap for inter-implant papillae reconstruction.



Figure 13.—Occlusal view of the temporary prosthesis.

osteotomy site (Figure 14). A trephine bur (outer diameter, 2.1 mm or 3.3mm) was used for all the harvesting procedures. The trephine and bone sample were fixed by immersion in 4% buffered formaldehyde. The implant sites were prepared according to the manufacturers' instructions and implants were inserted.

Histological processing

The specimens were dehydrated in graded series of ethanol and embedded in light-curing plastic resin (Technov it 7200 VCL, Kulzer, Friedrichsdorf, Germany). Sections were taken through the longitudinal axis of each biopsy by sawing and grinding (Exakt Apparate-bau, Norderstedt, Germany). The specimens were



Figure 14.—Harvesting procedure of the tissue samples at the implants' sites.

embedded in paraffine, sectioned (3-5 μ m sections), and stained with hematoxyline-eosine and modified Mallory aniline blue. Examina-

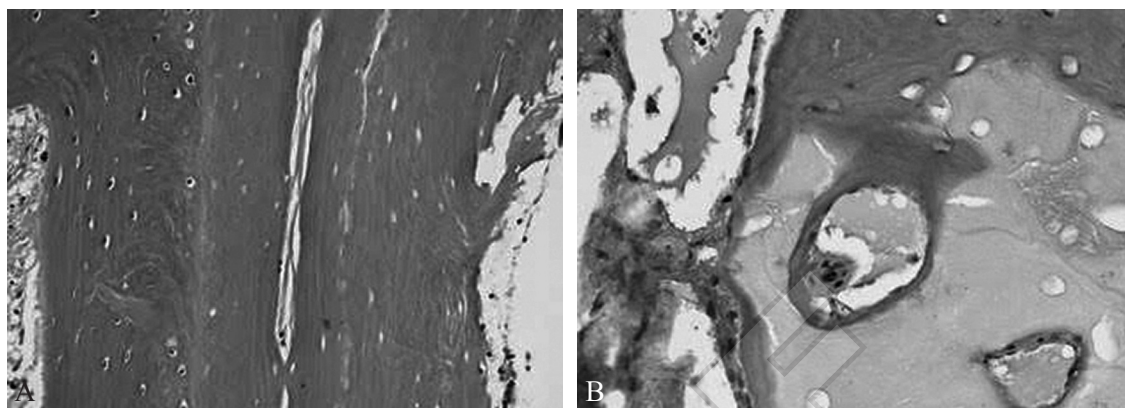


Figure 15.—Histological specimen. A) To the right the upper part of the lamina is shown with signs of vascularization. To the left there is a fairly sharp line (bottom part of lamina) and further to the left newly formed bone is shown including osteocytes (Magnification 10x); B) histological specimen. In the center, a particle of biomaterial is visible, totally surrounded by newly formed bone. An osteoclast is also recorded showing active resorption of the particle i.e. multinucleated and osteoclastic lacunae (Magnification 20x).

tions were performed in a Nikon Eclipse 80i microscope (Tekno Optik AB, Huddinge, Sweden) equipped with an easy image 2000 system (Tekno Optik AB) using x10 to x20 objectives for descriptive evaluation.

Results

Clinical findings

The patients were operated successfully. None of them complained of any pain and complications, such as superinfection of the graft or early exposure of the membrane during the healing time. All planned implants were placed in the augmented sites according to the prosthetic project. In case of the patients treated with a delayed approach, implants reached an appropriate primary stability during the insertion. All implants were clinically integrated at the moment of the suprastructure connection.

Descriptive histology

Histologic analysis after six months revealed nearly complete resorption and substitution of the cortical lamina by newly formed connective tissue. Furthermore varying degrees of bone tissue and remaining biomaterials as well as soft tissues such as loose connective tissue,

vessels, dense and fibrous tissue could be detected. The coronal aspect contained loose connective tissue with thin collagen fibers. Its cells population consisted mainly of fibroblasts. This tissue was well vascularized, especially in the periosteum envelope, with no signs of foreign body reaction. In active areas, the collagenated bone particles showed signs of new formation, which formed bridges between new bone and substitutes. The presence of scalloped resorption and osteons inside the particles indicated ongoing resorption and remodeling. A complete vascularization could be embedded.

From both a clinical and histological point of view, the cortical lamina was observed at the 6-month reentries. On the other hand, when the reentry was performed at 12 months, the cortical lamina could not be detected (Figure 15).

Discussion

The purpose of the present study was to clinically and histologically evaluate the effectiveness of a porcine collagenated cortico-cancellous lamina in the reconstruction of alveolar bone defects. To the best of our knowledge, only few studies have evaluated the clinical and histological outcome of this device, especially in case of vertical defects (II to III Seibert classes).^{12, 13} Furthermore, in the present study, both simultaneous and delayed

approaches have been evaluated. Despite the reduced sample size, no clinical and histological differences could be found between the two techniques.

The present study showed good clinical results when using a porcine bone substitute and a barrier membrane for the augmentation of the alveolar crest. The bone lamina technique has revealed a valid method to treat also vertical alveolar defects similarly to other non-resorbable barriers.¹⁶⁻¹⁸

The histological examination showed porcine bone to have osteoconductive properties as osteoblastic seams, and new bone was a common finding on the surface of the porcine bone particles. This is in line with previous reports on bone substitutes of porcine origin.^{11, 19} However, we also found evidences of osteoclastic resorption, both as the presence of scalloped areas on the surface and as formation of secondary osteons as part of remodeling inside the particles. No signs of foreign body reaction were detected. Further, at the coronal part of the defect, a well vascularized connective tissue was found. This might suggest a certain porosity of the membrane, which allows vascular cells ingrowth and new vessels formation, attesting the biocompatibility of the shield.

Interestingly, in the cases in which the re-entry surgery was conducted after 12 months, no signs of the lamina were found, whereas at six months the membrane was still clearly recognizable. A possible explanation might be related to the thickness of the shield itself. Supposedly, 1 mm thickness could prolong the resorption pattern to a greater extent in comparison with a reduced thickness. As a confirm, Wachtel *et al.* observed nearly complete resorption and substitution of the cortical bone lamina by newly formed connective tissue after 6 months of healing.¹¹ However, the authors used the soft version of the shield, which was 0.4 mm in thickness, factor that might have reduced the resorption time of the lamina itself during the healing time. From the clinical and histological observation, it can be assumed that the mean period of time required for complete resorption and substitution could be eight months. Such timespan may be ade-

quate to maintain a sufficient osteoconductive property during the healing time especially in case of vertical bone reconstruction.

Another point of debate is the structure of the membrane. Indeed, differently from the previous studies,^{11, 12} in the present study the curved bone lamina was employed. The clinical advantage of this characteristic was its adaptation to the alveolar crest, guaranteeing the optimal contour of the regenerated bone. Due to its elevated elastic memory, in some cases the membrane could also be left *in situ* without the need of fixation devices. To maintain this property, it is authors' opinion that the hydration of the membrane, particularly in case of vertical regeneration, should be limited, in order to preserve its stiffness and shape.

Further studies with an extended sample might allow for the histomorphometrical analysis deepening the present knowledge about this material and technique and to validate the preliminary results.

Conclusions

The bone lamina seems to have the requested proprieties as a device for vertical ridge reconstruction both clinically and histologically. This approach may have the potential to act as biologic and stable barrier technique for augmentation procedures. It may be assumed that the combination of a slowly resorbing cortical bone shield facing the inside of the defect and a bio-compatible and tissue friendly collagenated membrane facing the outside could have the potential to simplify the achievement of the desired results without depending from operator skills.

References

1. Maiorana C, Beretta M, Rancitelli D, Grossi GB, Cicciù M, *et al.* Histological Features and Biocompatibility of Bone and Soft Tissue Substitutes in the Atrophic Alveolar Ridge Reconstruction. Case Rep Dent 2016;2016:3608602.
2. McAllister BS, Haghighat K. Bone augmentation techniques. J Periodontol 2007;78:377-96.
3. Milinkovic I, Cordaro L. Are there specific indications for the different alveolar bone augmentation procedures for implant placement? A systematic review. Int J Oral Maxillofac Surg 2014.

4. Beretta M, Cicciu M, Poli PP, Rancitelli D, Bassi G, *et al.* A Retrospective Evaluation of 192 Implants Placed in Augmented Bone: Long-Term Follow-Up Study. *J Oral Implantol* 2015;41:669-74.
5. Cicciu M, Beretta M, Risitano G, Maiorana C. Cemented-retained vs screw-retained implant restorations: an investigation on 1939 dental implants. *Minerva Stomatol* 2008;57:167-79.
6. Hallman M, Thor A. Bone substitutes and growth factors as an alternative/complement to autogenous bone for grafting in implant dentistry. *Periodontol* 2000 2008;47:172-92.
7. Piattelli M, Favero GA, Scarano A, Orsini G, Piattelli A. Bone reactions to anorganic bovine bone (Bio-Oss) used in sinus augmentation procedures: a histologic long-term report of 20 cases in humans. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14:835-40.
8. Wang LC, Takahashi I, Sasano Y, Sugawara J, Mitani H. Osteoclastogenic activity during mandibular distraction osteogenesis. *J Dent Res* 2005;84:1010-5.
9. Lundgren D, Sennerby L, Falk H, Friberg B, Nyman S. The use of a new bioresorbable barrier for guided bone regeneration in connection with implant installation. Case reports. *Clin Oral Implants Res* 1994;5:177-84.
10. Rasia-Dal Polo M, Poli PP, Rancitelli D, Beretta M, Maiorana C. Alveolar ridge reconstruction with titanium meshes: A systematic review of the literature. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2014;19:e639-46.
11. Wachtel H, Fickl S, Hinze M, Bolz W, Thalmair T. The bone lamina technique: a novel approach for lateral ridge augmentation--a case series. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2013;33:491-7.
12. Pagliani L, Andersson P, Lanza M, Nappo A, Verrocchi D, *et al.* A collagenated porcine bone substitute for augmentation at Neoss implant sites: a prospective 1-year multicenter case series study with histology. *Clin Implant Dent Relat Res* 2012;14:746-58.
13. Festa VM, Addabbo F, Laino L, Femiano F, Rullo R. Porcine-derived xenograft combined with a soft cortical membrane versus extraction alone for implant site development: a clinical study in humans. *Clin Implant Dent Relat Res* 2013;15:707-13.
14. Lopez MA, Andreasi Bassi M, Confalone L, Carinci F. Regeneration of atrophic crestal ridges with resorbable lamina: technical note. *J Biol Regul Homeost Agents* 2015;29:97-100.
15. Siebert J. Reconstruction of deformed partially edentulous ridges using full thickness onlay grafts: Part I - technique and wound healing *Compend Contin Educ Dent* 1983;4:437-53.
16. Urban IA, Lozada JL, Jovanovic SA, Nagursky H, Nagy K. Vertical ridge augmentation with titanium-reinforced, dense-PTFE membranes and a combination of particulated autogenous bone and anorganic bovine bone-derived mineral: a prospective case series in 19 patients. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2014;29:185-93.
17. Herford AS, Lu M, Akin L, Cicciu M. Evaluation of a porcine matrix with and without platelet-derived growth factor for bone graft coverage in pigs. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2012;27:1351-8.
18. Poli PP, Beretta M, Cicciu M, Maiorana C. Alveolar ridge augmentation with titanium mesh. A retrospective clinical study. *Open Dent J* 2014;8:148-58.
19. Orsini G, Scarano A, Piattelli M, Piccirilli M, Caputi S, *et al.* Histologic and ultrastructural analysis of regenerated bone in maxillary sinus augmentation using a porcine bone-derived biomaterial. *J Periodontol* 2006;77:1984-90.

Congresses.—The present study was presented at the SIOCMF conference in Milan, the 11th of March 2016, during the memorial competition dedicated to Prof. Domenico Cicciu.

Conflicts of interest.—The authors certify that there is no conflict of interest with any financial organization regarding the material discussed in the manuscript.

Article first published online: June 30, 2016. - Manuscript accepted: June 26, 2016. - Manuscript revised: June 13, 2016. - Manuscript received: May 12, 2016.

L'impiego di una lamina corticale in collagene suino nella ricostruzione di difetti ossei alveolari. Studio clinico e istologico

La moderna implantologia spesso richiede tecniche ricostruttive al fine di soddisfare le richieste funzionali ed estetiche dei pazienti. Lo scopo delle terapie chirurgiche è, infatti, quello di ripristinare le condizioni pre-patologiche dei tessuti duri e molli per eseguire un'implantologia protesicamente guidata. Ciò può essere ottenuto mediante l'utilizzo di sostituti tissutali tra cui osso eterologo e matrici collageniche, riducendo allo stesso tempo la morbilità associata alle procedure di prelievo¹. In letteratura, sono stati proposti diversi approcci nelle ultime decadi, inclusa la rigenerazione ossea guidata (GBR) per mezzo di membrane riassorbibili e non riassorbibili^{2,3}. Un recente studio retrospettivo ha valutato 192 impianti con follow-up medio di sei anni associati a tecniche di rigenerazione ossea guidata, ed è stato riscontrato un tasso di sopravvivenza cumulativa (CSR) del 95,6%. Non sono emerse differenze statisticamente significative con-

siderando la tipologia di innesto, il tipo di membrana e il timing del posizionamento degli impianti rispetto alla procedura di rigenerazione ossea⁴. Inoltre, è ormai noto in letteratura come entrambi i tipi di protesi, avvitate o cementate, garantiscano risultati ottimi in termini di tassi di sopravvivenza e di successo⁵.

L'idrossiapatite eterologa di origine bovina rappresenta un materiale da innesto ampiamente documentato⁶. Esso possiede proprietà osteoconduttive e viene incorporato nel tessuto osseo dell'ospite in maniera simile agli innesti di origine autologa, come dimostrato dagli studi clinici e istologici. Ciononostante, esso sembra non essere affetto dall'attività osteoclastica e il conseguente rimodellamento, e questo può comportare una permanenza nei tessuti dell'ospite anche oltre il periodo di vita del paziente⁷. Una possibile spiegazione è il processo di deproteinizzazione dell'osso bovino durante

la preparazione del materiale, che comporta la deplezione della sua componente collagenica. Il meccanismo di riassorbimento osteoclastico non è completamente conosciuto, ma una possibile spiegazione sta nel fatto che il collagene induca l'adesione degli osteoclasti⁸. I criteri essenziali per raggiungere la rigenerazione ossea desiderata sono la stabilità dell'innesto e la protezione del coagulo ematico dalla migrazione dei tessuti molli nel tessuto di neo-formazione. Oggigiorno, l'utilizzo di membrane riassorbibili è diventato il trattamento di scelta data la loro maneggevolezza e per il basso rischio di sovra-infezione in caso di esposizione precoce. Il collagene ha molti vantaggi desiderati, incluso l'effetto emostatico, chemiotattico con funzione di adesione cellulare e ha ottenuto risultati favorevoli negli studi clinici che ne valutassero la sua efficacia in procedure di GBR. Per contro, in questo tipo di membrane l'effetto di mantentore di spazio è carente, dato il suo rapido tempo di riassorbimento e l'assenza di rigidità⁹. Infatti, le membrane riassorbibili vanno incontro a una rapida biodegradazione da parte dell'attività enzimatica dei macrofagi e leucociti polimorfonucleati risultante in una scarsa resistenza della membrana al collasso, permettendo alle cellule indesiderate di penetrare nello spazio isolato dell'area della ferita. Per tale ragione, le membrane riassorbibili non sono adeguate per la rigenerazione ossea verticale e ciò implica l'utilizzo di barriere non riassorbibili quali le membrane in politetrafluoroetilene denso (d-PTFE) e le griglie in titanio. Gli svantaggi correlati a queste barriere sono l'alta incidenza di esposizione, che può compromettere drammaticamente il risultato finale dell'operazione chirurgica. L'utilizzo di questi mezzi implica un rientro chirurgico con un esteso lembo per la loro rimozione. Inoltre, è stato dimostrato clinicamente ed istologicamente che vi è uno strato di tessuto connettivo sovrastante l'osso rigenerato soprattutto quando vengono utilizzate le griglie in titanio¹⁰. L'impiego innovativo di una barriera collagenata di osso corticale suino sembra avere una serie di differenti vantaggi clinici: 1) stabilità a lungo termine della barriera, che permette di mantenere il volume desiderati durante il periodo di guarigione per la formazione del tessuto osseo e il rimodellamento della cresta ossea; 2) la consistenza plastica necessaria per ottenere la ricostruzione anche in senso verticale; 3) l'assenza di un secondo rientro chirurgico necessario per la sua rimozione; 4) la qualità d'integrazione sia con l'osso nativo che con l'innesto apposizionale; 5) la guarigione per seconda intenzione con mucosa cheratinizzata in caso d'esposizione precoce, diminuendo il rischio di sovra infezione; 6) la scarsa presenza di tessuto connettivo al di sopra dell'osso rigenerato. A oggi, a nostra conoscenza, non vi sono studi clinici randomizzati in letteratura che descrivono la tecnica della lamina corticale, a eccezione di alcune serie cliniche che presentano risultati promettenti¹¹⁻¹⁴.

Lo scopo di questo studio è di testare sia clinicamente che istologicamente l'utilizzo di una membrana porcina collagenata nelle procedure di aumento osseo a componente verticale ed orizzontale in associazione con un innesto di osso porcino particolato.

Materiali e metodi

Campione dello studio

Il presente studio pilota ha incluso 8 pazienti (6 femmine e 2 maschi) con età media di 45 anni. I criteri di inclusione comprendevano pazienti maggiorenni con il bisogno di terapia implantare con uno o più impianti; la presenza di un difetto osseo localizzato, che potesse precludere il posizionamento implantare e/o compromettere il risultato estetico atteso. I criteri di esclusione comprendevano la presenza di infezione al sito e ogni condizione medica generale o terapia medica che precludesse la chirurgia orale. Un consenso scritto informato è stato ottenuto da tutti i pazienti partecipanti allo studio. Esami clinici e radiografici comprendenti radiografie intraorali, ortopantomografie, e in alcuni casi scansioni tomografiche di tipo cone-beam (CBCT) sono state condotte durante la fase di pianificazione pre-operatoria. Lo studio è stato svolto in pieno accordo con i principi etici, inclusa la Dichiarazione della Associazione Medica Mondiale di Helsinki.

Biomateriali e mezzi di fissazione

I biomateriali utilizzati sono stati tutti approvati dalle autorità competenti e commercialmente disponibili alle indicazioni pertinenti il presente studio. L'innesto osseo era costituito da osso porcino collagenato (MP3 OsteoBio[®], Teenoss Srl, Giaveno, Torino, Italia), mentre la membrana consisteva in una barriera collagenata corticospongiosa (Lamina Curva 35 x 35 x 1 mm, OsteoBio[®], Teenoss Srl). La membrana è una lamina corticale malleabile derivata dall'osso corticale porcino dalla consistenza plastica. La membrana può essere sagomata ogni volta con forbici sterili per raggiungere la dimensione desiderata, idratata in soluzione fisiologica sterile finché si è ottenuta la consistenza desiderata, e adattata completamente a copertura del sito innestato. Sono stati utilizzati pins di fissazione in titanio (MC Bio Srl, Lomazzo, Como, Italia) per fissare la lamina, con un design conico ritentivo a forma di arpione di lunghezza 4 mm.

Procedura chirurgica

Prima dell'intervento chirurgico, ogni paziente ha ricevuto specifiche istruzioni di igiene orale e una seduta di igiene orale professionale. Alla fine della preparazione iniziale, prima di cominciare le procedure chirurgiche, i pazienti avevano dimostrato un idoneo controllo di placca. Nessuno dei pazienti aveva riferito allergie alla penicillina e, di conseguenza, è stata prescritta come terapia antibiotica 2 g di amoxicillina più acido clavulanico (Augmentin[®], GlaxoSmithKline S.p.A., Verona, Italia) un'ora prima dell'intervento e 1 g due volte al giorno per sette giorni. Ai pazienti è stato chiesto di fare sciacqui con collutorio a base di clorexidina 0.2% (Dentosan[®], Recordati S.p.A., Milan, Italia) tre volte al giorno dalla settimana antecedente l'intervento chirurgico fino alla rimozione delle suture.

Dopo uno sciacquo con una soluzione a base di clo-

rexidina digluconato 0.2%, prima dell'incisione, sono stati iniettati intramuscolo 4 mg di desametasone fosfato (Soldesam®, Laboratorio Farmacologico Milanese s.r.l., Varese, Italia) al fine di ridurre il gonfiore post-operatorio. L'anestesia locale è stata ottenuta per infiltrazione con articaina/epinefrina 1:100.000. Un lembo a tutto spessore con incisione crestale è stato eseguito ed esteso intrasulcularmente sull'aspetto vestibolare dei denti adiacenti ed elevato per esporre i difetti ossei. Una o due incisioni di rilascio verticali sono state effettuate a partire dalla linea d'angolo dei denti adiacenti il difetto, estendendosi profondamente rispetto alla linea mucogengivale. Il lembo è stato conseguentemente rilasciato per mezzo di incisioni periostali (incisioni di Rehremann) al fine di ottenere una chiusura per prima intenzione senza tensioni residue. La superficie corticale dell'osso è stata perforata in diversi siti con una piccola fresa a palla per indurre il sanguinamento dallo spazio midollare per favorire la rivascularizzazione dell'innesto. Conseguentemente, un sostituto osseo porcino deproteinizzato e preidratato è stato posizionato e adattato al difetto al fine di ricreare un corretto profilo anatomico della cresta ossea. La matrice ossea corticale è stata sagomata e ritagliata rispettando le caratteristiche anatomiche del sito, e fissata sopra l'innesto utilizzando due o più pins sulla superficie vestibolare e orale. Per evitare il contatto diretto, circa 1 mm di spazio è stato mantenuto tra la membrana e i denti adiacenti. Il lembo vestibolare e quello orale sono stati riposizionati e la ferita chirurgica è stata suturata tramite punti a materassaio orizzontale e punti staccati (Goretex® CV5, Flagstaff, AZ, USA). Successivamente, i pazienti sono stati istruiti a eseguire sciacqui con clorexidina digluconato 0.2% tre volte al giorno per almeno due settimane. Per ridurre il gonfiore, sono stati prescritti farmaci anti-infiammatori non steroidei. Le suture sono state rimosse 14 giorni dopo la chirurgia. La guarigione è decorsa senza eventi avversi e una chiusura per prima intenzione è stata riscontrata in tutti i casi. In caso di posizionamento implantare differito, una CBCT è stata effettuata per pianificare la fase implantare successiva (Figure 1-13).

Raccolta del campione istologico

A seconda della tipologia di difetto, la seconda fase chirurgica è stata eseguita a distanza di 6 fino a 12 mesi. Una guarigione a sei mesi è stata prevista nei casi a prevalente componente orizzontale del difetto (Classe I in accordo alla classificazione di Seibert)¹⁵, mentre una guarigione di 12 mesi è stata attesa quando la componente prevalente era quella orizzontale (Classe II - III). Durante il rientro chirurgico, un lembo mucoperiosteale è stato elevato e la cresta scheletrizzata. I pins di fissazione sono stati generalmente rimossi e i campioni biotici sono stati prelevati dalle aree adiacenti ai siti innestati in caso di approccio simultaneo. Diversamente, in caso di approccio implantare differito, le biopsie ossee sono state raccolte in posizione medio-crestale a livello dei siti osteotomici implantari (Figura 14). Una fresa trephine (diametro esterno 2.1 mm o 3.3 mm) è stata utilizzata

per tutte le procedure di prelievo. La trephine assieme al campione osseo è stata conservata in immersione di una soluzione di formaldeide tamponata al 4%.

Processamento istologico

I campioni sono stati disidratati a concentrazioni ascendenti di etanolo e fissati in resina plastica fotopolimerizzabile (Technov it 7200 VCL, Kulzer, Friedrichsdorf, Germany). Le sezioni sono state ottenute sull'asse longitudinale di ogni biopsia (Exakt Apparate-bau, Norderstedt, Germania). Successivamente i campioni sono stati conservati in paraffina, sezionati per strati di 3-5 µm e fissati in ematossilina-eosina e modificata con blue anilina Mallory. Le analisi sono state eseguite con un microscopio Nikon Eclipse 80i (Tekno Optik AB, Huddinge, Svezia) associato a un sistema specifico di acquisizione immagine (tekno Optik AB) usando ingrandimenti da 10x fino 20x utilizzati per la valutazione descrittiva.

Risultati

Risultati clinici

I pazienti sono stati operati con successo. Nessuno ha lamentato dolore acuto o complicanze, come sovra-infezione dell'innesto o esposizione precoce della membrana nel periodo di guarigione. Tutti gli impianti sono stati posizionati nei siti aumentati in accordo con il progetto protesico. In caso di pazienti trattati con approccio dilazionato, gli impianti hanno raggiunto un'adeguata stabilità primaria durante l'inserzione. Gli impianti sono risultati clinicamente integrati al momento della connessione con la sovrastruttura protesica.

Risultati istologici

L'analisi istologica dopo 6 mesi ha rivelato un parziale riassorbimento e sostituzione della lamina corticale da tessuto connettivo di neoformazione. Inoltre, vari gradi di tessuto osseo e biomateriale residuo sono stati riscontrati insieme a tessuti molli quali connettivo lasso, fibroso e denso e vasi sanguigni. L'aspetto coronale presentava tessuto connettivo lasso con sottili fibre collageniche. La sua popolazione cellulare consisteva principalmente in fibroblasti. Questo tessuto è apparso ben vascularizzato, specialmente a livello periostale, senza segni di reazione da corpo estraneo. Nelle aree attive, le particelle di osso collagenato hanno mostrato segni di nuova formazione, formanti ponti tra il nuovo osso e l'innesto particolare. La presenza di lacune di riassorbimento ad aspetto frastagliato e osteoni all'interno delle particelle di biomateriale indicava fasi di riassorbimento e rimodellamento attivo. È stata riscontrata inoltre una completa vascularizzazione dell'innesto.

Sia da un punto di vista clinico e istologico, la lamina corticale era sempre visibile nei rientri chirurgici a 6 mesi. Contrariamente, quando il rientro chirurgico è avvenuto a 12 mesi, la lamina corticale non poteva più essere identificata (Figura 15).

Discussione

L'obiettivo del presente studio è stato quello di valutare clinicamente e istologicamente l'efficacia di una lamina cortico-spongiosa collagenata porcina nella ricostruzione di difetti ossei alveolari. Per le conoscenze a nostra disposizione, solo alcuni studi hanno valutato il risultato clinico e istologico di questo dispositivo, specialmente in caso di difetti ossei verticali (II e III classe di Seibert)^{12, 13}. Inoltre, nel presente case-series, entrambi gli approcci simultaneo e dilazionato sono stati valutati. Nonostante la ridotta dimensione del campione, nessuna differenza clinica e istologica è stata riscontrata fra le due tecniche.

Il presente studio ha mostrato buoni risultati clinici quando la membrana porcina e il sostituto osseo venivano impiegati per l'aumento delle creste alveolari. La tecnica della lamina corticale si è rivelata essere un valido metodo per il trattamento dei difetti alveolari verticali in maniera simile alle altre barriere non riassorbibili¹⁶⁻¹⁸.

L'esame istologico ha mostrato come l'osso porcino possieda proprietà osteoconduttive, e osso neoformato è stato un comune riscontro sulla superficie delle particelle di osso porcino. Ciò è in linea con i precedenti reports sui sostituti ossei di origine porcina^{11, 19}. Ciò nonostante, sono state riscontrate evidenze di riassorbimento osteoclastico come la presenza di aree frastagliate superficiali e la presenza di osteoni secondari internamente al biomateriale particolato. Non sono state riscontrate reazioni da corpo estraneo. Inoltre, sull'aspetto coronale del difetto, è stato possibile osservare un tessuto connettivo ben vascolarizzato. Ciò può suggerire una certa porosità della membrana, che permette la permeabilità delle cellule vascolari con formazione di nuovi vasi, confermando la biocompatibilità della barriera stessa.

Di particolare interesse, il fatto che nei casi in cui il rientro chirurgico è stato condotto a 12 mesi, nessun segno di lamina veniva osservato. Contrariamente, nei casi in cui il rientro avveniva a 6 mesi, la membrana era ancora chiaramente riconoscibile. Una possibile spiegazione può essere correlata allo spessore della membrana stessa. Ipoteticamente, 1 mm di spessore potrebbe aver prolungato il pattern di riassorbimento per un periodo maggiore in confronto con le membrane di spessore ridotto. A conferma, Wachtel *et al.* hanno osservato un quasi completo riassorbimento e sostituzione della lamina corticale da tessuto connettivo di neoformazione dopo 6 mesi di guarigione¹¹. Ciononostante, gli autori hanno utilizzato la versione sottile della barriera, spessa 0.4 mm, fattore che potrebbe aver ridotto il tempo di riassorbimento della lamina stessa durante il periodo di guarigione. Dall'osservazione clinica e istologica, può essere dedotto che il periodo medio di tempo necessario per un completo riassorbimento e sostituzione può essere di circa otto mesi. Questo lasso di tempo deve essere adeguato al fine di mantenere una sufficiente proprietà osteoconduttiva durante la guarigione, soprattutto in caso di rigenerazione ossea verticale.

Un altro punto di discussione è la struttura della membrana. Infatti, a differenza degli studi pubblicati in prece-

denza^{11, 12}, nel presente studio è stata impiegata la lamina curva. Il vantaggio clinico di questa caratteristica è il suo adattamento alla cresta alveolare, garantendo un contorno ottimale dell'osso rigenerato. In conseguenza della sua elevata memoria elastica, in alcuni casi la membrana può anche essere lasciata *in situ* senza necessità di mezzi di fissazione. Per mantenere questa proprietà, è opinione degli autori che l'idratazione di questa membrana, particolarmente in caso di rigenerazione verticale, dovrebbe essere limitata al fine di preservarne la rigidità e la forma.

Ulteriori studi con un'estensione del campione potrebbero permettere l'analisi anche di tipo istomorfometrico approfondendo l'attuale conoscenza di questo materiale e tecnica chirurgica in modo da validare i risultati preliminari.

Conclusioni

La lamina ossea sembra avere le proprietà necessarie per la ricostruzione ossea verticale sia da un punto di vista clinico che istologico. La stabilità e la biocompatibilità di questa barriera possono renderla potenzialmente efficace per le procedure di aumento osseo. Può essere assunto che la combinazione di un lento pattern di riassorbimento della barriera corticale rivolta verso il difetto assieme alla porzione biocompatibile a contatto con i tessuti molli superficiali potrebbe avere il potenziale per semplificare il raggiungimento dei risultati desiderati riducendo le possibili complicanze operatore-dipendente della tecnica.

Riassunto

OBIETTIVO: La ricostruzione alveolare per mezzo di membrane riassorbibili e non-riassorbibili è stata proposta al fine di incrementare il volume dei tessuti duri nei siti deficitari. L'obiettivo del presente studio è stato quello di testare clinicamente e istologicamente l'impiego di una lamina corticale in collagene suino in caso di procedure di incremento osseo orizzontale e verticale, associato a innesto osseo suino particolato.

METODI: Complessivamente, sono stati reclutati 8 pazienti parzialmente edentuli (6 femmine e 2 maschi) con una età media di 45 anni, che necessitavano procedure di rigenerazione ossea al fine di eseguire un posizionamento implantare protesicamente guidato. Tutti i difetti alveolo-crestali sono stati rigenerati per mezzo di una barriera eterologa di osso corticale in combinazione con osso eterologo particolato. Le biopsie ossee sono state prelevate durante il rientro chirurgico.

RISULTATI: Un totale di 15 impianti sono stati posizionati sia simultaneamente che con procedura differita nei siti aumentati. Non sono occorse complicanze durante le successive fasi riabilitative. Da un punto di vista istologico, la lamina ossea è risultata essere ampiamente vascolarizzata ed integrata con i tessuti molli circostanti e l'osso nativo. La presenza di lacune osteoclastiche ha suggerito un rimodellamento attivo dell'innesto particolato e una graduale sostituzione con osso di neoformazione.

CONCLUSIONI: La ricostruzione alveolare per mezzo di lamina corticale collagenata ha dato risultati clinici e istologici incoraggianti. La rigidità e il lento pattern di riassorbimento hanno permesso la protezione del coagulo ematico anche in caso di difetti ossei verticali, evitando allo stesso tempo il rientro chirurgico per la sua rimozione.