

# Rigenerazione ossea con una membrana corticale di origine equina: uno studio retrospettivo

*Bone regeneration using an equine cortical membrane: a retrospective study*

Ricevuto il 18 luglio 2019  
Accettato il 18 dicembre 2019

\*Autore di riferimento  
Danilo Alessio Di Stefano  
distefano@centrocivitali.it

Danilo Alessio Di Stefano<sup>1\*</sup>  
Riccardo Tizzoni<sup>2</sup>  
Davide Fiori<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Libero professionista, Centro Odontoiatrico Civitali Srl, Milano; professore a contratto in Chirurgia orale, Dental School, Università Vita-Salute e IRCCS San Raffaele, Milano

<sup>2</sup>Libero professionista, Milano

<sup>3</sup>Libero professionista, Centro Odontoiatrico Civitali Srl, Milano

## RIASSUNTO

### OBIETTIVI

Nell'ambito della riabilitazione protesica su impianti nella zona estetica è indispensabile un'adeguata ricostruzione dei tessuti duri e molli. Tale ricostruzione si ottiene attraverso la rigenerazione ossea guidata (GBR), che prevede il posizionamento di una membrana fra i tessuti molli e l'innesto osteoconduttore, che a sua volta appoggia sul sito osseo ricevente. La membrana funge da barriera meccanica tra le cellule che andranno a rigenerare il tessuto os-

seo e quelle che invece ripareranno i tessuti gengivali. Essa ha lo scopo di proteggere i difetti ossei e di impedire che il sito alveolare venga invaso da tessuto connettivo. Inoltre, stabilizza l'innesto e impedisce micromovimenti che potrebbero ostacolare il processo di rigenerazione ossea.

In passato alcuni autori hanno impiegato con successo membrane ossee, di origine omologa, costituite da sottili lamine ossee parzialmente demineralizzate. Nonostante gli esiti clinici favorevoli, esse

non sono state più impiegate, probabilmente a causa della loro origine omologa e ai conseguenti problemi di reperibilità e costi.

Gli autori stanno impiegando da tempo una membrana simile, di origine equina, sulla quale ad oggi esiste solo evidenza aneddotica.

Questo studio presenta i risultati di un'analisi retrospettiva a medio termine dell'impiego di questa tipologia di membrana in interventi di posizionamento implantare e contestuale rigenerazione ossea guidata.

### MATERIALI E METODI

Sono state selezionate le cartelle cliniche di pazienti ai quali è stato inserito almeno un impianto contestualmente a un intervento di rigenerazione ossea guidata. Il successo implantare è stato valutato attraverso i criteri di Albrektsson e Zarb. Se disponibili, si sono analizzati qualitativamente anche eventuali dati istologici e tomografici (CBCT).

### RISULTATI

I risultati si riferiscono a 17 pazienti di età compresa tra 36 e 67 anni, media  $53,7 \pm 9,2$  anni, a cui

sono stati posizionati 24 impianti. Il follow-up medio era di  $38,1 \pm 3,7$  mesi. Due impianti sono falliti, per un tasso di successo implantare pari all'87,5%.

Sono stati analizzati istologicamente 7 campioni di membrana, a un tempo medio dalla chirurgia di  $4,3 \pm 1,2$  mesi: tutte le porzioni considerate erano ancora occlusive. Sei scansioni CBCT mostravano tutte, in corrispondenza della

zona di innesto, la formazione di uno strato osseo corticale.

### CONCLUSIONI

Le membrane corticali equine appaiono possedere una lunga permanenza ed effetto barriera e rimodellamento a medio termine consentendo la formazione di uno strato di tessuto corticale non dissimile da quello fisiologicamente presente nel processo alveolare.

### SIGNIFICATO CLINICO

Qualora un difetto osseo presenti caratteristiche anatomiche (dimensioni maggiori, numero ridotto di pareti ossee) tali da far ritenere che la sua rigenerazione attraverso tecniche di GBR necessiti di una membrana a lunga permanenza causa la maggiore difficoltà biologica di rimaneggiamento, il chirurgo potrà scegliere di impiegare la membrana de-

scritta in questo studio, data la sua lunga permanenza e il prolungato effetto barriera.

### PAROLE CHIAVE

- Rigenerazione ossea guidata
- Membrana corticale
- Sostituti ossei equini
- Eliminazione enzimatica degli antigeni
- Impianti

## ABSTRACT

### OBJECTIVES

Implant-supported prosthetic rehabilitation in the aesthetic area requires an adequate reconstruction of hard and soft tissues. This reconstruction can be achieved by means of the guided bone regeneration (GBR) technique, which involves the positioning of a membrane between the soft tissues and the osteoconducting graft, which in turn is placed on the receiving site.

The membrane acts as a mechanical barrier between the cells that will regenerate the bone tissue and those that will repair the gingival tissues. It aims to protect bone defects and to prevent the alveolar site from being invaded by connective tissue. Moreover, it stabilizes the graft and prevents micro-movements that could hinder the process of bone regeneration.

In the past, some authors have successfully used homologous bone membranes made of thin, partially demineralized bone plates. Despite positive clinical results, their use was discontinued, possibly because of their homologous origin and the consequent availability issues and high costs associated.

The authors of this article have been using since a long time a similar membrane, but with equine origin, which currently still lacks a significant body of evidence.

To partially close this knowledge gap, the present study reports the outcome of a retrospective mid-term analysis regarding the use of this type of membrane in implant positioning interventions and the associated guided bone regeneration.

### MATERIALS AND METHODS

Clinical records of patients to whom at least one implant was in-

serted concurrently with a guided bone regeneration intervention were selected.

Implant success was assessed by means of the criteria defined by Albrektsson and Zarb. When available, histological and tomographic (CBCT) data were also qualitatively analyzed.

### RESULTS

17 patients aged between 36 and 67 years (average  $53.7 \pm 9.2$ ) were selected, for a total of 24 implants placed. The average follow-up was  $38.1 \pm 3.7$  months. Two implants failed, for an implant success rate of 87.5%.

7 membrane samples were histologically analyzed at an average time after surgery of  $4.3 \pm 1.2$  months: all the portions considered were still occlusive. Six CBCT scans showed the formation of a cortical bone layer in the graft area.

### CONCLUSIONS

Cortical equine membranes appear to possess a long persistence and barrier effect, and to undergo remodeling in the medium term, hence allowing the formation of a cortical tissue layer similar to that physiologically present in the alveolar process.

### CLINICAL SIGNIFICANCE

When treating few-wall, large bone defects according to a Guided Bone Regeneration (GBR) approach, the oral surgeon – expecting a slow regeneration kinetic – might want to use the membrane described in the present study, given its long permanence and barrier-effect.

### KEY WORDS

- Guided bone regeneration
- Cortical membrane
- Equine bone substitutes
- Enzymatic antigen-elimination
- Implants

## 1. INTRODUZIONE

L'implantologia protesicamente guidata richiede che gli impianti dentali siano inseriti in una posizione che permetta la consegna al paziente della protesi che, secondo il piano di trattamento concordato, fornisca la migliore riabilitazione in termini sia estetici che funzionali.

Questo richiede che nella sede prevista di posizionamento implantare vi sia un volume di tessuto osseo sufficiente al posizionamento degli impianti e sia possibile in quelle posizioni ottenere una stabilità primaria sufficiente dell'impianto.

Questa condizione non è sempre raggiunta nella pratica clinica per una serie di cause che includono chirurgie precedenti, traumi, difetti congeniti e l'atrofia ossea che consegue all'edentulia<sup>[1-3]</sup>. In questi casi è necessario ricorrere a interventi di rigenerazione ossea. Questi sono consigliabili anche in quei casi in cui il volume osseo è sufficiente al posizionamento implantare, ma il risultato estetico ottenibile non sarebbe altrimenti soddisfacente<sup>[4]</sup>.

Gli approcci possibili per eseguire un intervento di rigenerazione ossea sono molteplici<sup>[5-7]</sup>. Tra le metodiche più impiegate si annovera la rigenerazione ossea guidata (GBR, *Guided Bone Regeneration*); la tecnica prevede che il sito dove si desidera avvenga la rigenerazione del tessuto osseo sia protetto attraverso una membrana che, agendo da barriera, impedisca l'invasione delle cellule prive di potenziale osteogenico e delimiti spazialmente il volume in cui, invece, si possono accumulare e differenziare le cellule osteo-progenitrici provenienti dal circostante tessuto vitale del paziente<sup>[8]</sup>.

Le caratteristiche ideali di una membrana barriera per GBR includono l'occlusi-

ività, l'effetto *space-making*, la maneggevolezza clinica<sup>[9]</sup>.

Le prime membrane utilizzate erano non-riassorbibili<sup>[10-13]</sup>; in seguito sono state introdotte anche membrane di tipo riassorbibile, con l'obiettivo di risparmiare al paziente un secondo intervento chirurgico<sup>[14,15]</sup>.

Entrambe le tipologie di membrana sono oggi impiegate con successo, laddove il chirurgo orale deve, sulla base del tipo di intervento programmato e dell'anatomia del sito oggetto di rigenerazione, stimare correttamente la cinetica del processo rigenerativo e scegliere la membrana che garantisca un tempo adeguato di protezione, sufficiente affinché il processo stesso di rigenerazione possa avere luogo.

In questo contesto rivestono particolare interesse le membrane riassorbibili a lunga permanenza: esse, infatti, permettono di eseguire con successo interventi di rigenerazione anche di difetti piuttosto estesi, continuando a evitare la necessità di eseguire un secondo intervento chirurgico, soprattutto nei casi in cui l'inserimento implantare può essere eseguito contestualmente alla prima chirurgia.

Tra queste membrane si annoverano quelle costituite da un sottile strato di osso corticale, più o meno demineralizzato per renderlo flessibile. Membrane di questo tipo, di origine omologa, sono state impiegate con successo in procedure di GBR<sup>[16-18]</sup>, per gestire perforazioni della membrana sinusale<sup>[19]</sup> e per il trattamento di difetti infraossei<sup>[20]</sup>.

I vantaggi di questo tipo di membrane, sottolineati dagli autori citati, includono il tempo prolungato di protezione<sup>[19]</sup> che, come detto, potrebbe favorire la rigenerazione di siti che per dimensioni e/o scarsa irrorazione potrebbero guarire più lentamente<sup>[4,21]</sup>.

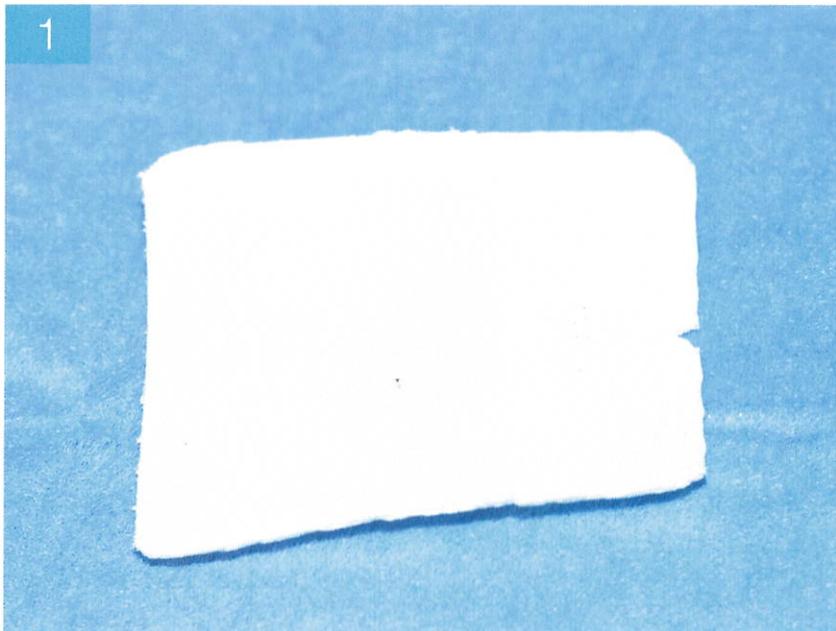
Non vi è in letteratura, però, ulteriore evidenza del loro utilizzo nella pratica clinica. I motivi non sono noti; si ritiene possibile che risiedano nella loro origine omologa e nei problemi conseguenti di costo, reperibilità e accettazione da parte del paziente.

Gli autori stanno impiegando da più anni una membrana simile costituita da uno strato sottile di osso corticale, di origine equina, flessibile e reso biocompatibile grazie all'impiego di un processo enzimatico di rimozione degli antigeni. L'evidenza pubblicata in merito all'impiego di questa membrana è aneddotica, limitandosi a un intervento di rigenerazione ossea orizzontale<sup>[22]</sup> e a un caso in cui la rigenerazione aveva lo scopo di ricreare e mantenere un profilo osseo in zona estetica<sup>[23]</sup>.

Gli autori ritengono utile portare nuovamente all'attenzione della comunità clinica la possibilità di impiegare questa tipologia di membrana attraverso la presentazione di una ridotta *case serie* dove la stessa è stata impiegata con successo in interventi di rigenerazione ossea guidata peri-implantare.

## 2. MATERIALI E METODI

Sono state analizzate retrospettivamente le cartelle cliniche di tutti i pazienti che, afferenti ai centri degli autori tra gennaio 2014 e dicembre 2017, sono stati riabilitati con protesi su impianti e che, per almeno un impianto, sono stati sottoposti a un intervento concomitante di GBR peri-implantare impiegando la membrana corticale oggetto di studio (Osteopant Membrana Corticale, Bioteck, Arcugnano, Vicenza, Italia) (**fig. 1**); sono state incluse solo le cartelle cliniche dei pazienti che, oltre ad avere fornito consenso informato al trattamento



**Fig. 1** La membrana corticale oggetto di questo studio è un sottile strato d'osso corticale di dimensioni 25 x 25 x 0,2 mm (come quella qui raffigurata) o 50 x 25 x 0,2 mm, ottenuta per eliminazione enzimatica degli antigeni, ma non del collagene, e successiva demineralizzazione parziale, a partire da tessuto osseo corticale di origine equina

proposto, avevano dato il loro consenso a un possibile impiego in forma anonima dei propri dati per eventuali analisi statistiche retrospettive.

La membrana in esame è stata impiegata secondo le normali procedure previste nella pratica clinica e secondo le indicazioni di impiego del fabbricante; i dati raccolti in cartella clinica sono stati quelli usualmente registrati, indipendentemente da un possibile futuro impiego ai fini di ricerca. Per questi motivi, e data la natura retrospettiva di questo studio, non si è ritenuto necessario richiedere l'approvazione del Comitato Etico competente.

Sono state analizzate le cartelle cliniche di pazienti:

- ai quali è stato posizionato, in qualunque punto delle due arcate, almeno un impianto osteointegrato, lasciato sommerso e per il quale si è atteso un

tempo di guarigione di almeno tre mesi prima della sua scopertura;

- sottoposti a concomitante rigenerazione ossea guidata peri-implantare;
- ai quali è stata consegnata una protesi definitiva, avvitata o cementata, almeno 30 ma non più di 60 giorni dalla consegna del provvisorio.

Sono stati inclusi solo i casi in cui è stato utilizzato, per gli interventi di rigenerazione ossea, il medesimo sostituto osseo granulare, di origine equina, reso biocompatibile attraverso eliminazione enzimatica degli antigeni (Osteoplast Osteoxenon, Bioteck, Arcugnano, Vicenza, Italia).

Si sono considerati solo casi di inserimento di impianti cilindrici, includendo dati relativi a impianti anche di fabbricanti differenti (Xive, Dentsply, USA; Stone, IDI Evolution, Concorezzo, Mila-

no, Italia; Drive, Neodent, Svizzera; Certain tapered, 3i, USA).

Gli autori hanno voluto limitare l'analisi retrospettiva ai soli impianti cilindrici intendendo eseguire anche un'analisi della variazione dei livelli ossei marginali, al fine di evitare l'introduzione di un ulteriore fattore potenzialmente confondente i risultati relativi a questo endpoint, in uno studio già non scevro dalla presenza di variabili confondenti, dato il suo disegno retrospettivo.

Le cartelle cliniche dovevano includere almeno le radiografie endorali acquisite al posizionamento implantare, a un follow-up a 6 mesi e alle visite di controllo annuali. Per i pazienti che non si sono più presentati, da un certo momento in avanti, alle visite di controllo si è considerato come dato valido di follow-up l'ultimo disponibile. Se il paziente non si è sottoposto a uno o più controlli, ma si è poi presentato a un controllo successivo, si è considerato come dato di ultimo follow-up valido l'ultimo disponibile e il dato mancante è stato considerato *missing* nell'analisi statistica successiva.

Considerate incluse le cartelle cliniche contenenti i dati elencati, eventuali dati aggiuntivi in esse presenti, quali ad esempio evidenze istologiche o acquisizioni tomografiche attraverso CBCT, sono stati comunque considerati durante l'analisi retrospettiva a fine documentale.

Altri criteri di inclusione prevedevano che la cartella clinica si riferisse a pazienti di età compresa tra 18 e 70 anni, non in gravidanza, non affetti da alcuna patologia sistemica, non affetti da osteoporosi, neoplasie o patologie psichiatriche, non affetti da infezioni orali acute, non sofferenti di disturbi della coagulazione, senza una storia di chemioterapia o radioterapia al capo collo, non

immunocompromessi, non sottoposti a trattamento con bifosfonati, non facenti uso di stupefacenti, o etilisti, e non fumatori di più di 10 sigarette al giorno.

### **Membrana corticale**

La membrana corticale utilizzata in questo studio è fabbricata a partire da tessuto osseo corticale di origine equina (fig. 1). L'eliminazione degli antigeni avviene attraverso un processo che non altera la componente ossea e lascia inalterato il collagene osseo. Il tessuto osseo corticale non-antigenico è quindi sezionato in lamine dello spessore di circa 0,2 mm rese flessibili attraverso un processo di demineralizzazione parziale ottenuto tramite immersione in una soluzione di HCl a bassa molarità<sup>[22,23]</sup>. La lamina sottile che si ricava è, a tutti gli effetti, un innesto osseo utilizzabile come membrana barriera grazie alle sue caratteristiche di forma e occlusività. Nella maggior parte dei casi questa membrana deve essere stabilizzata con viti o pin per favorirne l'integrazione con le porzioni di tessuto osseo adiacenti all'innesto.

### **Procedura chirurgica**

A seguito dell'esame clinico e radiografico e della conseguente elaborazione del piano di trattamento, approvato dal paziente, si è proceduto alla chirurgia come segue. Si è iniziata la profilassi antibiotica (amoxicillina/acido clavulanico, Augmentin, Glaxo-SmithKline, Verona, Italia) (2 g un'ora prima della chirurgia e quindi ogni 12 ore per i successivi 8-10 giorni) e il paziente ha eseguito degli sciacqui con clorexidina 0,2% (Corsodyl, Glaxo-SmithKline, Verona, Italia), da proseguire per 2 settimane dopo la chirurgia. Come terapia antalgica è stato somministrato, un'ora prima della chi-

rurgia, nimesulide 100 mg (Aulin, Roche, Milano, Italia), da assumere due volte al giorno per sette giorni a seguire.

L'area chirurgica è stata anestetizzata utilizzando artocaina cloridrato 40 mg/ml con epinefrina 1:100.000. Si è quindi sollevato un lembo a spessore totale e si è proceduto al posizionamento implantare secondo le istruzioni del fabbricante. I siti ossei peri-implantari sono stati preparati eseguendo alcune perforazioni dello strato corticale utilizzando una fresa a palla. I difetti peri-implantari sono stati innestati utilizzando il sostituto osseo di origine equina, che consiste in una miscela 1:1 in peso di granuli cortico-spongiosi del diametro di 0,5-1 mm, dopo averlo idratato con fisiologica. La membrana corticale (25 x 25 x 0,2 mm o 50 x 25 x 0,2 mm) è stata quindi sagomata utilizzando forbici sterili, idratata con fisiologica e posizionata sul versante vestibolare della cresta, in modo da ricoprire circa 3 mm di tessuto osseo del paziente circostante l'innesto. La membrana è stata sempre stabilizzata alla corticale ricevente utilizzando da 1 a 3 pin (Frios, Dentsply, York, Pennsylvania, USA). Si è proceduto quindi alla chiusura e sutura dei lembi utilizzando suture non riassorbibili (Monomyd 5-0, Butterfly, Cavenago, Italia). Le suture sono state rimosse dopo 10-14 giorni. Dopo un periodo di attesa di almeno 3 mesi e fino a 6 mesi si è proceduto alla scopertura degli impianti e al posizionamento delle viti di guarigione. Dove possibile, i pin di fissaggio della membrana sono stati rimossi eseguendo allo scopo una minima incisione dei tessuti molli. Qualora permesso dall'entità del sollevamento del lembo necessario alla scopertura degli impianti, si è proceduto a prelevare un minimo campione bioptico della membrana per eseguire

successivamente l'analisi istologica. Dopo 8 settimane, o più, ottenuto un appropriato condizionamento dei tessuti molli si è proceduto a consegnare al paziente una protesi provvisoria. La protesi definitiva è stata consegnata un mese dopo. I pazienti sono stati rivisti mensilmente per i primi 6 mesi e poi ogni 6 mesi (figg. 2-4).

### **Estrazione dei dati dalle cartelle cliniche**

I dati estratti dalle cartelle cliniche sono stati, relativamente al paziente: età, sesso, abitudine al fumo (non fumatore o fumatore di meno di 10 sigarette/die). I parametri clinici considerati sono stati i valori di riassorbimento osseo marginale, ricavati come descritto nel paragrafo che segue, misurati al momento dell'inserimento implantare (baseline), annualmente a seguire e all'ultima visita di controllo. È stata inoltre misurata l'incidenza delle complicanze e/o di eventuali eventi avversi.

### **Riassorbimento osseo marginale**

Le radiografie endorali sono state scannerizzate digitalmente, convertite in immagini TIFF a 600 dpi di risoluzione e analizzate con un software dedicato (Image J, NIH, Bethesda, US): dopo avere caricato la singola immagine, il software è stato calibrato attraverso la misura del diametro implantare, noto, al colletto.

Si è quindi proceduto a misurare la distanza dall'interfaccia impianto-moncone al punto più apicale della cresta ossea ancora a stretto contatto con l'impianto. La misura, arrotondata a 0,01 mm, è stata eseguita sia sul lato mesiale che distale dell'impianto. Il livello osseo peri-implantare relativo all'impianto

di interesse (PBL, *Peri-implant Bone Level*) è stato quindi calcolato come media dei due valori. Il riassorbimento osseo marginale (MBL, *Marginal Bone Loss*) a una data distanza di tempo dalla chirurgia è stato quindi calcolato come la differenza tra il livello osseo peri-implantare misurato in quel momento e quello alla baseline.

### Eventuale analisi istologica

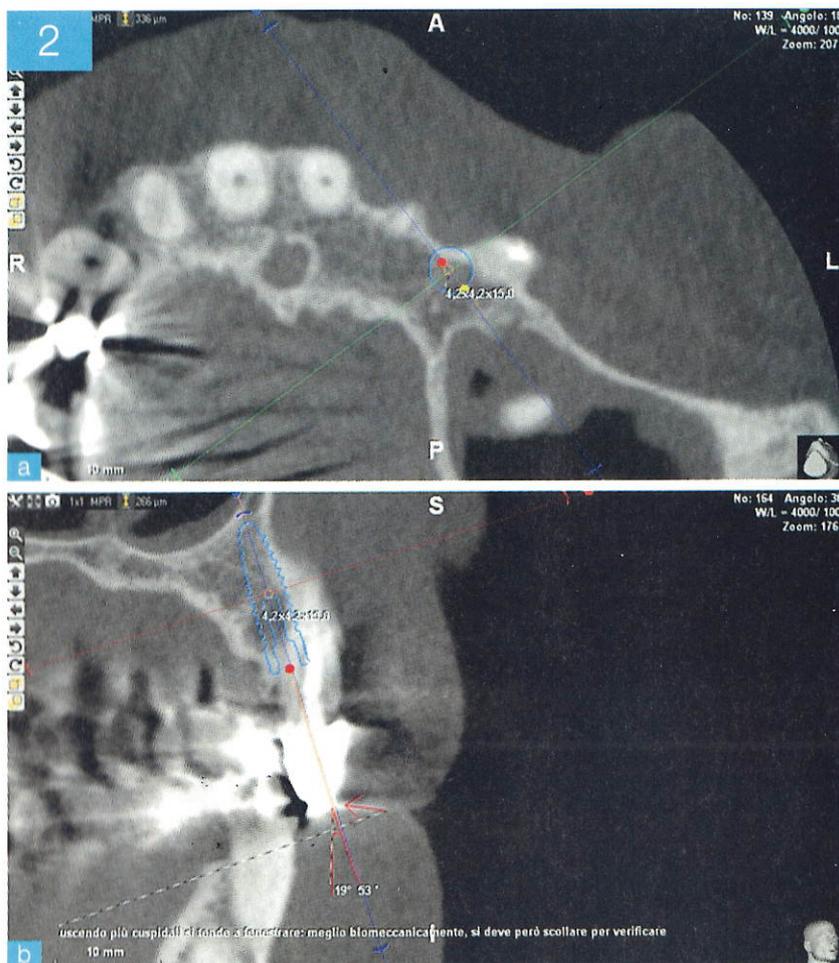
Eventuali biopsie raccolte alla scopertura dell'impianto sono state dapprima conservate in una provetta contenente formalina tamponata al 10% e quindi inviate, dopo essere state siglate con un codice alfanumerico univoco, al laboratorio istologico.

Qui, i campioni sono stati decalcificati per 21 giorni in una soluzione di sodio formiato 0,76M (Panreac Quimica, Barcellona, Spagna), deidratati in concentrazioni crescenti di etanolo e, infine, inclusi in paraffina. Dagli inclusi sono state ricavate sezioni sottili (5  $\mu$ m) che sono state montate su vetrino e colorate con ematossilina-eosina. L'analisi istologica qualitativa veniva eseguita allo scopo di identificare eventuali segni di infiammazione o reazioni immunitarie e per valutare se la porzione di membrana considerata appariva ancora occlusiva.

### Analisi statistica

I dati demografici dei pazienti, nonché le altre loro caratteristiche misurate alla baseline, sono stati analizzati attraverso l'impiego di statistiche descrittive. Queste sono state impiegate anche per descrivere la frequenza e la distribuzione di eventuali complicanze.

Per studiare l'efficacia del trattamento si è proceduto ad analizzare il riassorbimento osseo marginale considerando come unità dell'analisi statistica sia

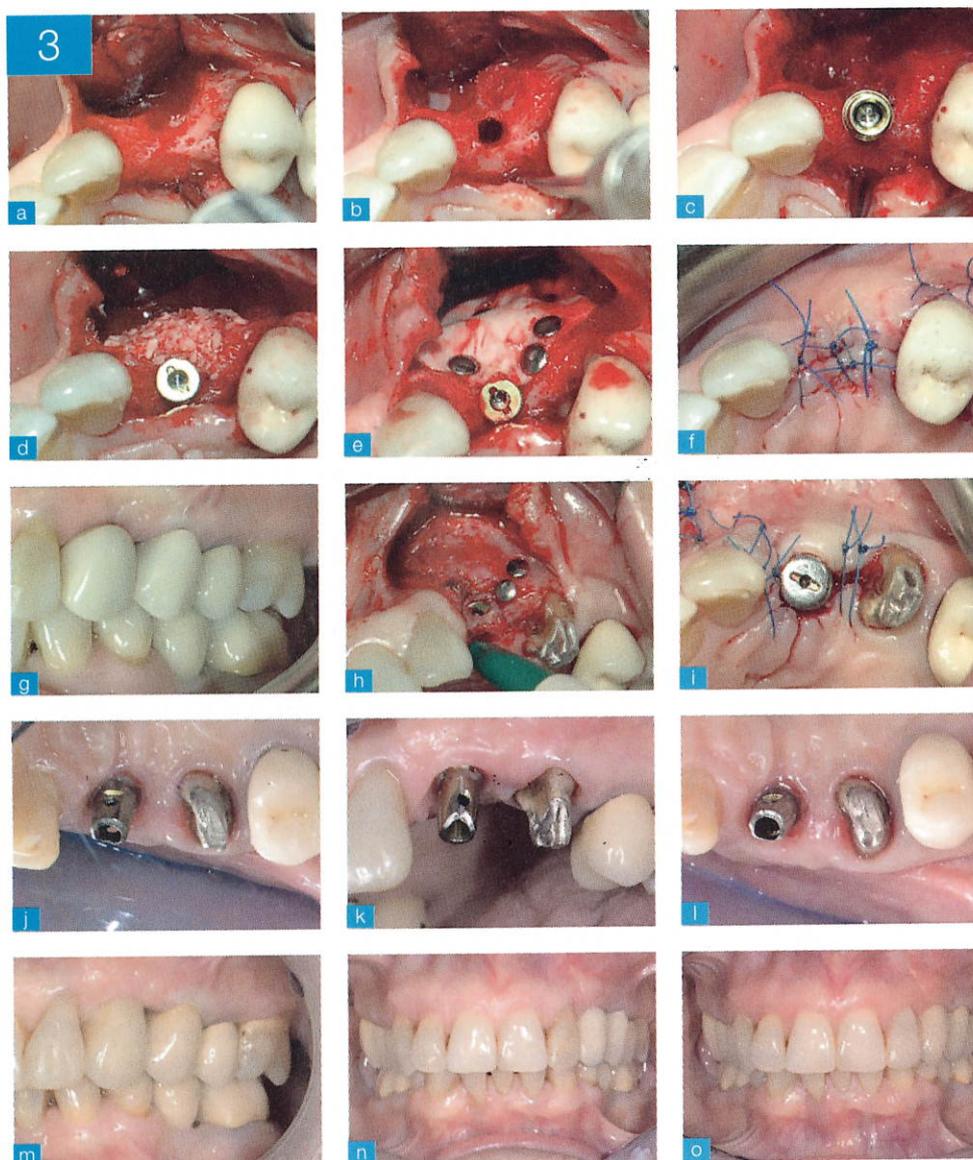


**Figg. 2a, b** CBCT di un caso rappresentativo. Il paziente si presentava con una frattura radicolare che richiedeva l'estrazione dell'elemento. Il piano di trattamento prevedeva il posizionamento di un impianto e la consegna di una protesi cementata

l'impianto che il paziente: nel primo caso, si è calcolato il valore medio di riassorbimento marginale a un dato tempo sperimentale come media di tutti i valori relativi a ciascun impianto. Questo calcolo è stato eseguito verificando, preliminarmente, che i due insiemi di dati raccolti nei due centri avessero la stessa varianza, utilizzando un test F, e verificandone la normalità attraverso un test di Shapiro-Wilk. Essendo entrambe le condizioni accertate, si è proceduto a verificare l'omogeneità dei dati raccolti nei due centri a un dato tempo

sperimentale attraverso un test ANOVA e, poiché lo stesso mostrava che i dati erano omogenei tra i due centri ( $p > 0,05$  in tutti i casi), gli stessi sono stati considerati come un unico insieme di dati raccolti nelle stesse condizioni sperimentali.

Si è quindi potuto procedere a confrontare i diversi valori di riassorbimento osseo marginale raccolti ai diversi tempi sperimentali per studiare come il riassorbimento è variato nel tempo, attraverso un test ANOVA seguito da test *post-hoc* di Bonferroni.



**Figg. 3a-o** Fasi della chirurgia. Al termine del posizionamento implantare, reso possibile anche dall'impiego di osteotomi, si rendeva necessario un intervento di rigenerazione ossea peri-implantare, eseguito con l'innesto particolato equino, protetto dalla membrana corticale, al fine di ripristinare il corretto profilo crestale. L'ultima immagine si riferisce all'ultima visita di controllo

L'analisi che vedeva il paziente come unità statistica è stata eseguita calcolando il valore medio di riassorbimento osseo, relativo a un paziente e a un certo tempo sperimentale, come la media del riassorbimento osseo a quel tempo sperimentale di tutti i suoi impianti. La normalità della distribuzione dei dati è stata verificata attraverso test di Shapiro-Wilk e i dati sono stati confrontati tra loro attraverso test ANOVA. Il successo e la sopravvivenza implantare all'ultima

visita di controllo sono stati valutati utilizzando i criteri descritti da Buser e colleghi<sup>[24]</sup> così come modificati da Albrektsson e Zarb<sup>[25]</sup> ovvero un impianto è stato considerato *successful* quando si sono riscontrate:

- assenza di dolore persistente, disestesia o parestesia nella sede di posizionamento implantare;
- assenza di infezione peri-implantare con o senza suppurazione;
- assenza di mobilità implantare;

- riassorbimento osseo marginale inferiore a 1,5 mm il primo anno dal momento del carico e 0,2 mm gli anni successivi.

Per valutare eventuali differenze di successo implantare tra fumatori e non fumatori si è confrontata la distribuzione dei fallimenti implantari nei due gruppi attraverso un test Chi quadro. Per verificare se il riassorbimento marginale variasse significativamente in

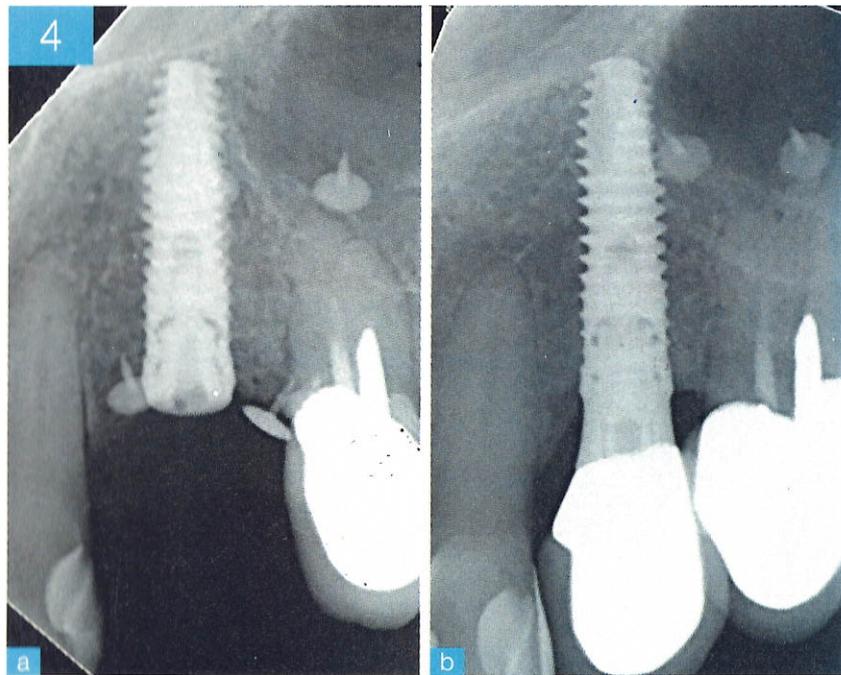
relazione al numero degli impianti posizionati nel contesto di ciascuna singola riabilitazione si è proceduto a raggruppare i pazienti in funzione del numero degli impianti posizionati, a calcolare il valore medio del riassorbimento marginale relativo a ciascun gruppo e a confrontare i valori ottenuti attraverso un test ANOVA.

Per tutti i test statistici impiegati, il livello di significatività prescelto è stato  $p = 0,05$ ; l'analisi statistica è stata eseguita utilizzando il software di analisi statistica Origin 9.0 (Microcal, USA). Tutti i valori sono riportati come media  $\pm$  deviazione standard (DS).

### 3. RISULTATI

Sono state identificate come corrispondenti ai criteri di selezione, le cartelle cliniche di 17 pazienti, 7 uomini e 10 donne, a cui sono stati posizionati 24 impianti. L'età dei soggetti era compresa tra 36 e 67 anni (media  $53,7 \pm 9,2$ ). Cinque soggetti (29%) erano fumatori (<10 sigarette/giorno). Undici impianti (45,8%) sono stati inseriti nel mascellare superiore e 13 (54,2%) nell'inferiore. Gli impianti erano di diametro compreso tra 3,8 e 6 mm e di lunghezza compresa tra 9,5 e 16 mm. Tutti i pazienti hanno avuto un decorso post-operatorio privo di eventi significativi.

I pazienti sono stati riabilitati con 22 protesi distinte, di cui 19 (86,3%) avvitate e 3 (13,7%) cementate. Il follow-up medio è stato di  $38,1 \pm 3,7$  mesi. Sono state analizzate, nel complesso, 95 radiografie endorali. Si sono osservati due casi di peri-implantite a carico di due impianti in una paziente fumatrice, entrambi con un significativo riassorbimento osseo peri-implantare che si estendeva per circa la metà dell'impianto. La pa-



**Figg. 4a, b** Radiografie endorali relative al caso presentato in fig. 3, acquisite al termine del posizionamento implantare (a) e all'ultimo controllo (b)

ziente non si è più presentata ai controlli successivi. I due impianti sono stati considerati perduti e non sono stati inclusi nell'analisi relativa al riassorbimento osseo marginale. La percentuale di eventi avversi è stata quindi di 2 su 24 impianti (8,3%) ovvero di 2 su 17 pazienti (11,8%). Non si sono osservati ulteriori casi di infezione o radiotrasparenza peri-implantare, per un tasso di sopravvivenza complessivo del 91,7%.

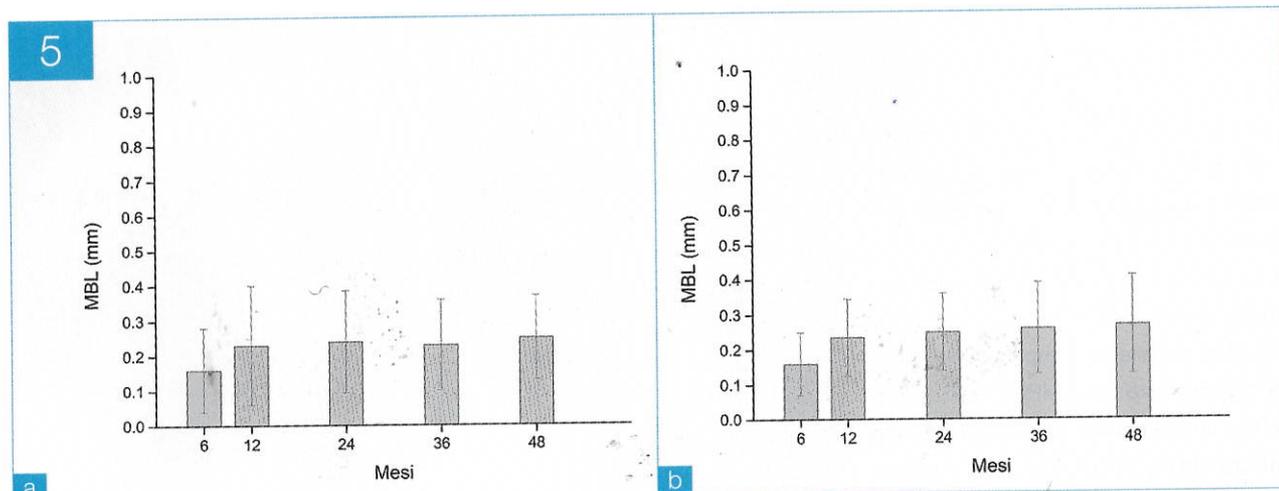
Gli impianti *successful* secondo i criteri di Albrektsson e Zarb erano 21 su 24,

ovvero l'87,5%. Durante il periodo di controllo non si sono osservate complicazioni protesiche. I livelli medi di riassorbimento marginale osservati alle diverse visite di controllo sono presentati in **tab. I** e nelle **figg. 5a, b**.

A livello di impianto, l'MBL medio osservato all'ultimo controllo (36 mesi) era di  $0,23 \pm 0,13$  mm; questo valore non era significativamente differente da quello misurato al controllo a 12 e 24 mesi (ANOVA,  $p = 0,33$ ). A livello di paziente, l'MBL medio osservato all'ultimo controllo era pari a

**Tab. I Riassorbimento osseo marginale alle visite di controllo, calcolato a livello di impianto e di paziente**

Follow-up (mesi)	MBL (mm) (analisi a livello di impianto)	MBL (mm) (analisi a livello di paziente)
6	$0,16 \pm 0,12$	$0,16 \pm 0,09$
12	$0,23 \pm 0,17$	$0,24 \pm 0,11$
24	$0,24 \pm 0,15$	$0,25 \pm 0,11$
36	$0,23 \pm 0,13$	$0,26 \pm 0,13$



**Figg. 5a, b.** Riassorbimento osseo marginale (MBL) alle visite di controllo: analisi a livello di impianto (a), analisi a livello di paziente (b)

0,26±0,14 mm, anch'esso non significativamente differente dai valori misurati alle visite di controllo a 12 e 24 mesi.

Sia a livello di impianto che di paziente, invece, il riassorbimento osseo marginale medio dopo i primi 6 mesi di carico risultava significativamente minore dei valori misurati successivamente ( $p < 0,05$  in entrambi i casi). Non si osservava una differenza significativa in merito alla distribuzione dei fallimenti implantari tra fumatori e non fumatori (**tab. II**,  $p = 0,49$ ). Non si osservava una differenza significativa tra i valori medi di riassorbimento osseo peri-implantare in relazione al numero di impianti posizionati ( $p = 0,41$ ).

La valutazione istologica è stata eseguita su 7 campioni di altrettante membrane, prelevati a  $4,3 \pm 1,2$  mesi dalla chirurgia. In nessun campione si sono osservati infiltrati infiammatori e in tutti i campioni la porzione di membrana analizzata appariva ancora occlusiva. Si osservavano, in alcuni campioni, minime zone di iniziale rimodellamento (**fig. 6**). Erano disponibili 6 controlli CBCT, acquisiti mediamente a  $26,2 \pm 5,3$  mesi dalla chirurgia. In tutte le

scansioni si poteva osservare, in corrispondenza della posizione che era stata inizialmente protetta con la membrana oggetto di studio, uno strato di osso corticale di spessore variabile (**figg. 7a, b**).

#### 4. DISCUSSIONE

Tra i fattori che più condizionano il successo di una procedura di rigenerazione ossea guidata, oltre a quelli relativi alla tecnica chirurgica e al paziente, si annoverano le caratteristiche della membrana barriera prescelta; le membrane riassorbibili permettono di evitare una seconda chirurgia per la loro rimozione, riducendo così il rischio di complicanze, i tempi e i costi associati all'intero intervento riabilitativo.

Caratteristiche favorevoli all'operatività e all'esito chirurgico includono sia la

possibilità di conferire agevolmente alla membrana la forma prescelta, sia una certa rigidità che permetta alla membrana di esercitare, almeno parzialmente, un effetto "tenda"<sup>[9,26]</sup>. Le caratteristiche microscopiche includono la capacità della membrana di essere occlusiva rispetto le popolazioni cellulari in gioco, pur mantenendo la capacità di scambiare fluidi, ossigeno, nutrienti e fattori di crescita<sup>[27,28]</sup>. Infine, i bordi della membrana devono potere formare un sigillo efficace con il tessuto osseo con cui sono posti a contatto per prevenire efficacemente l'invasione del sito innestato da parte dei tessuti molli<sup>[29]</sup>.

Le membrane riassorbibili hanno spesso tempi di protezione e riassorbimento scarsamente predicibili; questo implica che non è sempre facile riuscire a scegliere la membrana più adeguata al tipo

**Tab. II Distribuzione degli impianti tra pazienti fumatori (<10 sigarette/die) e non fumatori**

	Successful	Failed
Non fumatori	10	0
Fumatori	12	2

di difetto su cui si sta intervenendo. Se il tempo di riassorbimento è troppo breve, la rigenerazione può avvenire in modo difettivo<sup>[30]</sup> e in ogni caso la membrana può perdere troppo precocemente la sua capacità di esercitare un efficace effetto “tenda”.

Le membrane impiegate in questo studio sono costituite di osso corticale, come lo strato più esterno del processo alveolare. La porosità del tessuto osseo corticale è determinata dalle connessioni strutturali e funzionali che esso possiede col periostio. La corticale ossea, inoltre, modula lo scambio di tessuti e nutrienti all'interfaccia osso-periostio<sup>[31]</sup>.

Le membrane utilizzate in questo studio sono ottenute da tessuto osseo corticale attraverso un processo che non appare in grado di modificare la porosità del tessuto di origine; in questo senso, si può ipotizzare che esse possiedano una porosità tale da garantire uno scambio ottimale di fluidi, ossigeno e nutrienti con il tessuto osseo sottostante. La loro rigidità, durante l'applicazione clinica, appare intermedia tra quella

delle membrane in collagene e quella delle membrane in e-PTFE rinforzate in titanio; gli autori, tuttavia, non le ritengono adeguate all'impiego senza un concomitante innesto osseo che funga da mantentore di spazio, in linea con quanto già osservato in merito alle membrane simili, impiegate in passato, di tessuto osseo omologo<sup>[18]</sup>. A differenza di queste, tuttavia, le membrane utilizzate in questo studio – pur essendo dello stesso spessore (0,2 mm) – appaiono essere più malleabili, probabilmente a causa del processo di demineralizzazione cui sono state sottoposte.

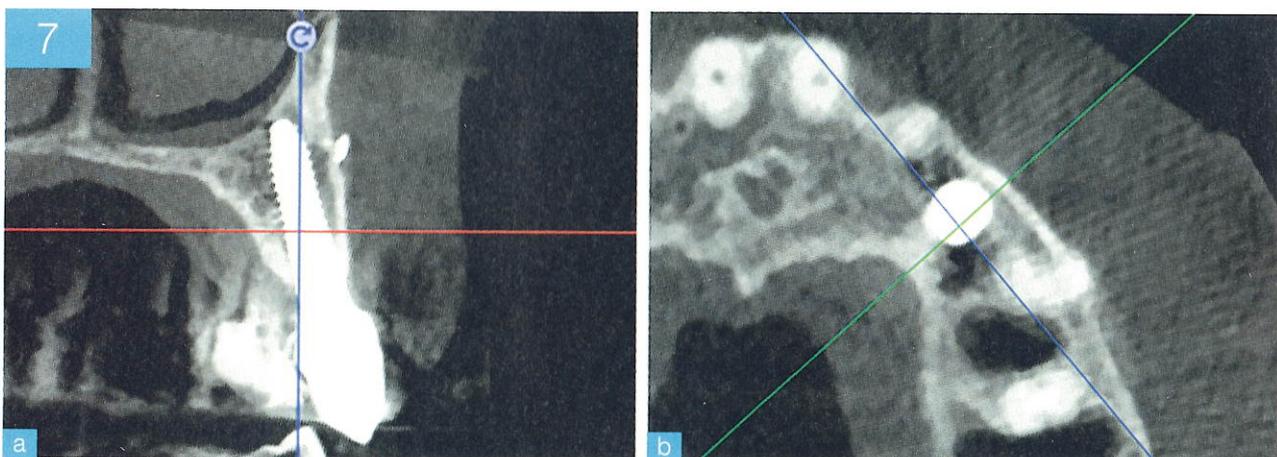
In nessun caso si sono osservati in corrispondenza ai siti di innesto segni di sofferenza dei tessuti molli, né deiscenze tessutali, coerentemente con quanto già osservato relativamente alle membrane simili di origine omologa<sup>[16-18,20]</sup>. Questo risultato dimostra che, purché si ottenga una chiusura adeguata dei tessuti molli, queste membrane sono ben tollerate dal tessuto gengivale.

L'analisi istologica qualitativa mostra che tra i 4 e i 6 mesi a seguire dall'innesto le membrane oggetto di studio sono



**Fig. 6** Aspetto istologico di una porzione di membrana prelevata a circa 4 mesi dal suo posizionamento. Colorazione ematossilina-eosina, ingrandimento 20x. La membrana è ancora occlusiva. Si possono osservare minime zone di rimodellamento sul versante della membrana a contatto con l'innesto (a destra nell'immagine)

ancora occlusive e non subiscono un rimodellamento significativo, in linea con le osservazioni di Majzoub et al.<sup>[18]</sup> relativamente alle membrane di origine omologa, che rimanevano integre e non vitali fino a 8 mesi dall'innesto. Questa os-



**Figg. 7a, b** Scansione CBCT relativa al caso presentato in figg. 2-4 acquisita all'ultima visita di controllo. Il pin residuo non è stato rimosso in quanto alla scopertura appariva sommerso dai tessuti e all'ultimo controllo non si rendeva visibile attraverso i tessuti molli né alla palpazione. Si osserva uno strato di osso corticale in corrispondenza della zona di innesto inizialmente protetta dalla membrana in osso corticale

servazione conferma ulteriormente quanto già suggerito da studi precedenti<sup>[22]</sup>, ovvero che queste membrane corticali equine siano oggetto di un riassorbimento piuttosto lento e possano quindi rimanere occlusive per un tempo significativamente più lungo di quello di altre membrane riassorbibili.

L'analisi qualitativa delle CBCT di controllo analizzate in questo studio mostra la presenza a medio termine, in corrispondenza della zona ove era presente la membrana corticale, di uno strato d'osso corticale di spessore significativamente maggiore di quello della mem-

I risultati relativi al successo e alla sopravvivenza implantare, presentati in questo studio sono coerenti con quanto riportato in letteratura relativamente al posizionamento implantare a seguito di incrementi crestali attraverso interventi di rigenerazione ossea guidata<sup>[40]</sup>. Detto questo, i risultati di questo studio sono di difficile confronto con specifici risultati riportati in letteratura relativi ad altre tipologie di membrane, data l'eterogeneità degli studi pubblicati sull'argomento e la natura retrospettiva di questo stesso studio (in merito alle sue limitazioni si veda più avanti).

## LA MEMBRANA CORTICALE EQUINA POSSIEDE UN PROLUNGATO EFFETTO BARRIERA E SEMBRA CONSENTIRE LA FORMAZIONE DI UNA CORTICALE VESTIBOLARE NON DISSIMILE DA QUELLA DEL PROCESSO ALVEOLARE

brana impiegata, come già osservato in precedenza aneddoticamente<sup>[23]</sup>. Queste osservazioni suggeriscono che la membrana oggetto di studio subisca a medio termine un processo di rimodellamento completo e, possibilmente, sia sostituita da uno strato corticale di nuova formazione. Questa osservazione dovrebbe essere oggetto di ulteriori studi. È possibile che questo processo di rimodellamento e sostituzione possa avvenire grazie alla conservazione all'interno della membrana del collagene osseo nella sua forma nativa, in una forma cioè in cui questa proteina può esercitare le sue note azioni pro-rigenerative<sup>[32-39]</sup>.

Per quanto noto agli autori, oltre alla membrana già impiegata da Majzoub et al.<sup>[18]</sup> e da Bartolucci<sup>[41]</sup>, in letteratura è possibile reperire notizia dell'impiego di una sola altra membrana simile a quella utilizzata in questo studio, di origine suina invece che equina.

L'unico studio nel quale essa è stata impiegata per un'indicazione simile a quella qui descritta appare essere quello pubblicato da Rossi et al.<sup>[42]</sup> nel 2016, dove la membrana di origine suina è stata impiegata in 8 pazienti parzialmente edentuli per la ricostruzione di difetti ossei pre- o peri-implantari, con risultati clinici e istologici a breve termi-

ne coerenti con i risultati riportati in questo articolo. Il confronto, tuttavia, tra l'applicazione clinica della membrana corticale equina oggetto di questo studio e altre tipologie di membrana dovrebbe essere oggetto di specifici studi clinici di tipo prospettico, randomizzato e comparativo.

I limiti di questo studio consistono nel suo disegno retrospettivo e nel numero ridotto di pazienti coinvolti. La natura retrospettiva dello studio comporta che i risultati osservati potrebbero essere stati influenzati da numerosi fattori confondenti, tra cui le caratteristiche dei pazienti che non possono essere state selezionate e rese omogenee attraverso un arruolamento di tipo prospettico; tali caratteristiche, solo parzialmente limitate dalle modalità di selezione delle cartelle cliniche, includono le terapie farmacologiche cui i pazienti erano sottoposti, le loro condizioni cliniche pregresse, l'estensione del difetto peri-implantare.

L'effetto confondente può essere ancora più evidente in presenza, come in questo studio, di una ridotta numerosità campionaria e quindi di una possibile ridotta valenza statistica dei risultati. In particolare, quanto osservato in relazione alle scansioni CBCT deve intendersi solo come riportato a livello aneddotico, e la formazione sistematica di un nuovo strato osseo corticale vestibolare solo come una possibilità da esplorare ulteriormente.

È per questo necessario condurre ulteriori studi clinici, possibilmente prospettici e controllati, per studiare ulteriormente l'esito sia clinico che istologico dell'impiego di queste membrane corticali equine in interventi di rigenerazione crestale e concomitante inserimento implantare.

## 5. CONCLUSIONI

Le membrane corticali equine utilizzate in questo studio appaiono agire come membrane riassorbibili a lunga permanenza e occlusività e permettono di eseguire con successo interventi di rigenerazione ossea guidata e conseguente riabilitazione implanto-protetica.

Il loro rimodellamento appare comportare, a medio termine, la formazione di uno strato di tessuto corticale che, in tomografia, risulta non sostanzialmente dissimile da quello fisiologicamente presente nel processo alveolare.

Questi risultati devono essere ulteriormente indagati attraverso l'esecuzione di studi clinici prospettici e controllati. ■

### CONFLITTO DI INTERESSI

Danilo Alessio Di Stefano ha un rapporto di consulenza con Bioteck S.p.A.; Riccardo Tizzoni e Davide Fiori dichiarano di non avere alcun conflitto di interessi.

### FINANZIAMENTI ALLO STUDIO

Gli autori dichiarano di non avere ricevuto nessun finanziamento per il presente studio.

### CONSENSO INFORMATO

Gli autori dichiarano che è stato ottenuto il consenso informato del paziente per la pubblicazione del caso, foto incluse.

## BIBLIOGRAFIA

- Atwood DA.** Reduction of residual ridges: a major oral disease entity. *J Prosthet Dent* 1971;26:266-79.
- Atwood DA.** Bone loss of edentulous alveolar ridges. *J Periodontol* 1979;50:11-21.
- Araújo MG, Lindhe J.** Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 2005;32:212-8.
- Buser D, Martin W, Belser UC.** Optimizing esthetics for implant restorations in the anterior maxilla: anatomic and surgical considerations. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19 Suppl:43-61.
- Nyman S, Lang NP, Buser D, Bragger U.** Bone regeneration adjacent to titanium dental implants using guided tissue regeneration: a report of two cases. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1990;5:9-14.
- Tinti C, Parma-Benfenati S, Polizzi G.** Vertical ridge augmentation: what is the limit? *Int J Periodontics Restorative Dent* 1996;16:220-9.
- Esposito M, Grusovin MG, Felice P, Karatzopoulos G, Worthington HV, Coulthard P.** The efficacy of horizontal and vertical bone augmentation procedures for dental implants - A Cochrane systematic review. *Eur J Oral Implantol* 2009;2:167-84.
- Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rylander H.** New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1982;9:290-6.
- Scantlebury TV.** 1982-1992: a decade of technology development for guided tissue regeneration. *J Periodontol* 1993;64:1129-37.
- Gotfredsen K, Warrer K, Hjørting-Hansen E, Karring T.** Effect of membranes and porous hydroxyapatite on healing in bone defects around titanium dental implants. An experimental study in monkeys. *Clin Oral Implants Res* 1991;2:172-8.
- Jovanovic SA, Spiekermann H, Richter EJ.** Bone regeneration around titanium dental implants in dehiscence defect sites: a clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1992;7:233-45.
- Carbonell JM, Martín IS, Santos A, Pujol A, Sanz-Moliner JD, Nart J.** High-density polytetrafluoroethylene membranes in guided bone and tissue regeneration procedures: a literature review. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2014;43:75-84.
- 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.
- Garg A.** Barrier membranes - materials review, Part I of II. *Dent Implantol Update* 2011;22:61-4.
- Stoeklin-Wasmer C, Rutjes AWS, da Costa BR, Salvi GE, Jüni P, Sculean A.** Absorbable collagen membranes for periodontal regeneration: a systematic review. *J Dent Res* 2013;92:773-81.
- Scher EL.** Loss of ridge width and the single tooth implant: clinical report. *Implant Dent* 1992;1:186-7.
- Fugazzotto PA.** The use of demineralized laminar bone sheets in guided bone regeneration procedures: report of three cases. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1996;11:239-44.
- Majzoub Z, Cordioli G, Aramouni PK, Vigolo P, Piattelli A.** Guided bone regeneration using demineralized laminar bone sheets versus GTAM membranes in the treatment of implant-associated defects. A clinical and histological study. *Clin Oral Implants Res* 1999;10:406-14.
- Shlomi B, Horowitz I, Kahn A, Dobriyan A, Chaushu G.** The effect of sinus membrane perforation and repair with Lambone on the outcome of maxillary sinus floor augmentation: a radiographic assessment. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19:559-62.
- Scott TA, Towle HJ, Assad DA, Nicoll BK.** Comparison of bioabsorbable laminar bone membrane and non-resorbable ePTFE membrane in mandibular furcations. *J Periodontol* 1997;68:679-86.
- Chiapasco M, Casentini P, Zaniboni M.** Bone augmentation procedures in implant dentistry. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009;24 Suppl:237-59.
- Di Stefano DA, Vinci R, Cremaschini G, Pagnutti S, Gherlone EF.** GBR-based restoration of peri-implant defect with an equine flexible cortical bone membrane and heterologous equine bone. *Ital Oral Surg* 2011;10:5-14.

- 23. Di Stefano DA, Garagiola U, Bassi MA.** Preserving the bone profile in anterior maxilla using an equine cortical bone membrane and an equine enzyme-treated bone graft: a case report with 5-year follow-up. *J Contemp Dent Pract* 2017;18:614-21.
- 24. Buser D, Weber HP, Bragger U, Balsiger C.** Tissue integration of one-stage implants: 3-year results of a prospective longitudinal study with hollow cylinder and hollow screw implants. *Quintessence Int* 1994;25:679-86.
- 25. Albrektsson T, Zarb G, Worthington P, Eriksson AR.** The long-term efficacy of currently used 529 dental implants: a review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1986;1(1):11-25.
- 26. Rakhmatia YD, Ayukawa Y, Furuhashi A, Koyano K.** Current barrier membranes: titanium mesh and other membranes for guided bone regeneration in dental applications. *J Prosthodont Res* 2013;57:3-14.
- 27. Salzmann DL, Kleinert LB, Berman SS, Williams SK.** The effects of porosity on endothelialization of ePTFE implanted in subcutaneous and adipose tissue. *J Biomed Mater Res* 1997;34:463-76.
- 28. Lundgren AK, Sennerby L, Lundgren D, Taylor A, Gottlow J, Nyman S.** Bone augmentation at titanium implants using autologous bone grafts and a bioresorbable barrier. An experimental study in the rabbit tibia. *Clin Oral Implants Res* 1997;8:82-9.
- 29. Kostopoulos L, Karring T.** Augmentation of the rat mandible using guided tissue regeneration. *Clin Oral Implants Res* 1994;5:75-82.
- 30. McGinnis M, Larsen P, Miloro M, Beck FM.** Comparison of resorbable and nonresorbable guided bone regeneration materials: a preliminary study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1998;13:30-5.
- 31. Allen MR, Hock JM, Burr DB.** Periosteum: biology, regulation, and response to osteoporosis therapies. *Bone* 2004;35:1003-12.
- 32. Green J, Schotland S, Stauber DJ, Kleeman CR, Clemens TL.** Cell-matrix interaction in bone: type I collagen modulates signal transduction in osteoblast-like cells. *Am J Physiol* 1995;268:C1090-103.
- 33. Baslé MF, Lesourd M, Grizon F, Pascaretti C, Chappard D.** Type I collagen in xenogenic bone material regulates attachment and spreading of osteoblasts over the beta1 integrin subunit. *Orthop* 1998;27:136-42.
- 34. Mizuno M, Fujisawa R, Kuboki Y.** Type I collagen-induced osteoblastic differentiation of bone-marrow cells mediated by collagen-alpha2beta1 integrin interaction. *J Cell Physiol* 2000;184:207-13.
- 35. Regazzoni C, Winterhalter KH, Rohrer L.** Type I collagen induces expression of bone morphogenetic protein receptor type II. *Biochem Biophys Res Commun* 2001;283:316-22.
- 36. Güngörmüş M, Kaya O.** Evaluation of the effect of heterologous type I collagen on healing of bone defects. *J Oral Maxillofac Surg* 2002;60:541-5.
- 37. Liu G, Hu Y-Y, Zhao J-N, Wu S-J, Xiong Z, Lu R.** Effect of type I collagen on the adhesion, proliferation, and osteoblastic gene expression of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Chin J Traumatol* 2004;7:358-62.
- 38. Güngörmüş M.** The effect on osteogenesis of type I collagen applied to experimental bone defects. *Dent Traumatol* 2004;20:334-7.
- 39. Toroian D, Lim JE, Price PA.** The size exclusion characteristics of type I collagen: implications for the role of noncollagenous bone constituents in mineralization. *J Biol Chem* 2007;282:22437-47.
- 40. Chiapasco M, Zaniboni M.** Clinical outcomes of GBR procedures to correct peri-implant dehiscences and fenestrations: a systematic review. *Clin Oral Implants Res* 2009;20 Suppl 4:113-23.
- 41. Bartolucci EG.** *Atlante di chirurgia periimplantare.* Milano: RC Edizioni Scientifiche, 1997.
- 42. 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 Oct;65(5):257-68.