

Remaix

The resorbable matrix



La membrana da scegliere
per una sicura rigenerazione ossea e tissutale.

Elevata sicurezza terapeutica | Eccellente biocompatibilità | Facile da utilizzare

Tempo di riassorbimento 12-16 settimane | Utilizzo da entrambi i lati

Ulteriore sviluppo di ACI-Maix: membrana ortopedica specifica per il trattamento di difetti di cartilagine articolare combinata con l'innesto di condrociti autologhi (MACI)

30x40 mm
25x30 mm
15x20 mm

Made in Germany

Alta-Tech
BIOTECHNOLOGIES
info@alta-tech.it | www.alta-tech.it

Mini sinus lift and tissue regeneration using autologous pulp micro grafts: a case report

Antonio Graziano *, Roberto Romagnoli **, Riccardo d'Aquino ***

Nonostante le tecniche e le tecnologie in ambito rigenerativo abbiano raggiunto una predicibilità che ne permetta il comune utilizzo pratico, l'uso di elementi cellulari progenitori nell'applicazione terapeutica della rigenerazione tissutale permetterà a questa disciplina di aprire nuove frontiere.

La presenza di una nuova tecnologia che permetta di isolare elementi progenitori disponibili immediatamente all'utilizzo clinico ha permesso di traslare tecnologie, fino ad adesso precluse al solo uso sperimentale, nella pratica clinica.

In questo case report il paziente è stato sottoposto a terapia implantoprotesica con contestuale rigenerazione ossea ottenuta mediante l'utilizzo di bio-materiali e progenitori isolate dalla polpa dentaria.

INTRODUZIONE

Attualmente, il più grande problema del trasferimento della ricerca scientifica nella pratica clinica delle sperimentazioni di rigenerazione tissutale con cellule staminali, riguarda non solo l'identificazione di una tecnologia che possa essere utilizzata nella routine clinica, ma anche l'individuazione di un sito donatore di elementi indifferenziati che sia accessibile e soprattutto performante. Nell'organismo umano si trovano

numerevoli siti o nicchie ricche di cellule staminali che, spesso, sono di difficile accesso chirurgico il che implica un prelievo con alto tasso di morbidity¹⁻⁶.

Nel distretto testa-collo, la polpa dentaria rappresenta un ottimo sito dove poter prelevare elementi indifferenziati incredibilmente abili e ad alto potenziale rigenerativo in grado di dare vita a differenti tessuti^{1,5,15,16}.

Questo sito è facilmente accessibile e con un piccolo sacrificio di tessuto. Nella comune pratica clinica odontoiatrica è facile trovarsi al cospetto di elementi dentari da estrarre per motivi parodontopatici (elementi hopeless) o per malposizionamento^{14,26}. In questi casi, il sacrificio tissutale è pressoché uguale a zero. È possibile, finanche, recuperare la polpa tramite trattamenti endodontici facendo sì che l'elemento dentario donatore possa rimanere in sede senza arrecare nessun danno.

Differenti studi, di diversi gruppi scientifici, hanno dimostrato le incredibili capacità differenziali insite negli elementi indifferenziati della polpa dentaria. Queste cellule possono essere isolate, con tecniche convenzionali e stimolate a produrre differenti tessuti oppure possono essere criopreservate^{1,7-13}.

L'incredibile potenziale di questi elementi rigenerativi, con le tecnologie comunemente presenti, non è trasferibile alla pratica clinica quotidiana¹⁴⁻²⁶. Per poter utilizzare queste cellule si è reso necessario elaborare un dispositivo abile nel separare ed isolare meccanicamente gli elementi progenitori dal resto delle strutture pulpari, senza effettuare delle manipolazioni.

In questo caso clinico, caratterizzato dall'inserimento di tre impianti in mascellare superiore, con rigenerazione ossea e mini sinus e alla loro successive protesizzazione, presentiamo un nuovo metodo per isolare elementi progenitori da diversi tessuti pronti all'utilizzo clinico.

* PhD in Biotecnologie e Scienze Odontostomatologiche oltre che Libero Professionista in Torino.

** Specialista in Chirurgia Maxillo-facciale e Odontostomatologia, Libero Professionista in Torino.

*** Specialista in Chirurgia Odontostomatologica e Libero Professionista in Napoli e Torino

Indirizzo per la corrispondenza:

Studio Odontoiatrico Associato Romagnoli Graziano D'Aquino
C.so Galileo Ferraris, 63 - Torino
E-mail: deagra@libero.it

CASO CLINICO

Il paziente A.S., maschio di 55 anni privo di patologie sistemiche e fumatore, si presentava alla nostra osservazione lamentando problemi a una protesi posizionata all'emiarcata superiore destra in sede 1.3-1.6., inserita circa 15 anni prima.

Da un'attenta osservazione clinica risultava che i monconi protesici erano completamente compromessi e che la protesi non aveva più possibilità di essere inserita correttamente. Residuavano solo le radici dei suddetti monconi (Fig. 1).

Il paziente veniva sottoposto a terapia parodontale per controllare l'indice di placca e soprattutto veniva invitato a ridurre il fumo e, successivamente, tenuto sotto osservazione per circa un anno.

Dopo aver controllato che tutti i parametri fossero sotto controllo si è proceduto all'inserimento di impianti in sede 1.3, 1.4 e 1.6. Contestualmente all'inserimento degli impianti in sede 1.4 e 1.6 veniva effettuato un minirialzo di seno secondo la tecnica M.I.S.E.. Per l'impianto in sede 1.3 veniva effettuata rigenerazione ossea vestibolare. Gli impianti in sede 1.3 e 1.6

venivano inseriti successivamente alle estrazioni delle radici concomitanti (Figg. 2, 3).

Sia per i minirialzi di seno sia per la rigenerazione ossea vestibolare in sede 1.3 come materiale da innesto veniva utilizzata una matrice collagenica ricca di cristalli di idrossiapatite (Biostite - GABA Vebas) associata ad una sospensione cellulare ricca di elementi progenitori prelevati da polpa dentaria.

La polpa dentaria veniva prelevata da un elemento parodontopatico estratto in sede 3.6 e, successivamente, processata con tecnologia Rigenera. Dopo aver estratto il molare



Fig. 1 Caso iniziale.



Fig. 2 Avulsione di 1.3.



Fig. 3 Avulsione di 1.6.



Fig. 4 Prelievo polpa.



Fig. 5 Rigeneracons.



Fig. 6 Rigenera Machines.

si procedeva, previa detersione dello stesso con CHX 0,2% in modo da eventuali batteri residui, all'apertura della camera utilizzando uno scalpello da osso e martello. In questo modo si evita di surriscaldare la struttura pulpare, cosa facilmente verificabile utilizzando degli strumenti rotanti. Successivamente con una courette si effettua il prelievo della polpa stessa (Fig. 4) e si procede a inserire la stessa nel filtro apposito (Fig. 5) (Rigeneracons HBW, Alta Tech, Sandrigo, Vicenza) con l'aggiunta di 1 ml di soluzione fisiologica sterile. Una volta inserito il filtro nella Rigenera Ma-

chines (Fig. 6). (HBW, Alta Tech, Sandrigo, Vicenza) si attiva la macchina e dopo circa 40 secondi si è pronti ad aspirare la sospensione cellulare così ottenuta (Fig. 7) ed a confrontarla con il biomateriale (Fig. 8).

Per i mini rialzi di seno si procedeva come segue: effettuato un sito pilota con una fresa di 1,8 mm (Fig. 9), avendo cura di arrivare quanto più vicino alla corticale alveolare del seno mascellare, ma facendo attenzione a non rompere la stessa, si procedeva ad utilizzare una fresa non tagliente in punta di diametro pari a 3 mm e con stop alla lunghezza di lavo-

ro della fresa pilota (Fig. 10, 11). Raggiunta l'altezza del sito pilota, si procede aumentando la lunghezza di lavoro di circa un millimetro alla volta fino a che la corticale non viene rotta. Successivamente si procede alla rettifica del sito avendo cura di non ledere la mucosa del seno mascellare ormai esposta. Con apposito strumento viene inserito il biomateriale imbibito (Fig. 12) che grazie alla spinta idrostatica della sospensione cellulare effettua lo scollamento della membrana permettendo il vero aumento osseo in ambito sinusale. Ottenuto l'incremento desiderato si procedeva



Fig. 7 Prelievo sospensione cellulare.



Fig. 8 Imbibizione biomateriale.



Fig. 9 Fresa pilota.



Fig. 10 Mini sinus in sede 1.6.



Fig. 11 Mini Sinus in sede 1.4.



Fig. 12 Inserimento biomateriale nei siti di mini rialzo di seno.

Graziano A, Romagnoli R, d'Aquino R

all'inserimento degli impianti nei siti neoformati (Camlog Biotechnologies, Basilea, Svizzera - Alta Tech, Sandrigo, Vicenza) (Figg. 13, 14).

Per quanto concerne la rigenerazione del difetto vestibolare in sede 1.3 (Fig. 15), dopo aver effettuato la rettifica del sito implantare con apposite frese (Fig. 16) si è proceduto all'inserimento dell'impianto (Camlog Biotechnologies, Basilea, Svizzera - Alta Tech, Sandrigo, Vicenza) (Fig. 17) e alla successiva rigenerazione del sito tramite innesto del complesso biomateriale/sospensione cellulare e alla copertura del tutto con una mem-

brana riassorbibile in collagene (Remaix, Matricel GmbH, Herzogenrath, Germania) (Fig. 18). La membrana veniva solidarizzata con sutura riassorbibile. Il sito chirurgico veniva suturato con punti a materassoio orizzontale e punti staccati (Fig. 19).

Dopo circa 3 mesi dall'inserimento degli impianti si procedeva all'apertura degli stessi e all'inserimento di un provvisorio per il condizionamento delle mucose utilizzando dei temporary abutment in pec (Camlog Biotechnologies, Basilea, Svizzera - Alta Tech, Sandrigo, Vicenza) (Figg. 20, 21).

Dopo aver condizionato le mucose si procedeva al rilevamento delle impronte definitive e all'elaborazione del manufatto protesico (Fig. 22).

Per la riabilitazione definitiva si preferiva utilizzare monconi Esthomic PS (Camlog Biotechnologies, Basilea, Svizzera) per sfruttarne le caratteristiche del Platform Switching.

Dopo circa sette mesi dall'intervento si procedeva all'inserimento della protesi definitiva (Fig. 23). Dall'esame radiografico effettuato a tre anni si nota come le strutture ossee rigenerate e quelle a supporto implantare siano perfettamente conformate (Fig. 24).



Fig. 13 Inserimento impianto in sede 1.6.



Fig. 14 Inserimento impianto in sede 1.4.



Fig. 15 Difetto in sede 1.3.



Fig. 16 Secondo passaggio frese Camlog.



Fig. 17 Inserimento impianto in sede 1.3.



Fig. 18 Rigenerazione difetto in sede 1.3.



Fig. 19 Sutura.



Fig. 20 Scopertura e inserimento Temporary Abutment.



Fig. 21 Provisorio.



Fig. 22 Inserimento definitivo.

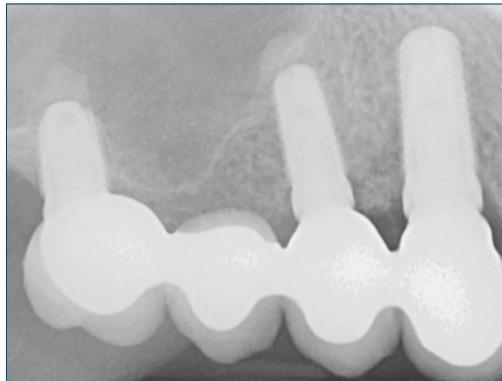


Fig. 23



Fig. 24a Esame Rx opt post inserimento definitivo.

Fig. 24b Rx controllo a tre anni.



DISCUSSIONE

Il Protocollo Rigenera è una procedura clinica di rigenerazione tissutale che si basa sulla creazione di microinnesti autologhi in grado di accelerare e promuovere i processi di guarigione e rigenerazione nei siti dove vengono posizionati. Detti microinnesti vengono generati mediante la disgregazione meccanica del tessuto donatore nel filtro Rigeneracons a partire da frammenti tissutali di pochi millimetri dello stesso paziente, disgregazione che non lede la vitalità cellulare; contemporaneamente alla frammentazione, attraverso un filtro da 50 micron, avviene l'arricchimento delle cellule progenitrici vitali, essendo queste ultime caratterizzate da dimensioni medie inferiori rispetto alle cellule più mature e meno attive e per questo agevolate nel superamento di detto filtro. Il processo di disgregazione e filtrazione impiega circa un minuto e comincia dopo l'aggiunta di circa 1 ml di soluzione fisiologica sterile nel Rigeneracons e l'inserimento dello stesso nella Rigenera Machine che, mediante un albero motore opportunamente calibrato,

attiva l'elica presente nel filtro. La sospensione tissutale recuperata dal chirurgo alla fine del processo, può essere utilizzata per imbibire dei biomateriali e ricostituire così un biocomplesso dalle dimensioni pari fino a 20 volte il volume del frammento donatore di partenza.

Questa tecnologia apre nuovi spiragli alla rigenerazione clinica. L'utilizzo di progenitori cellulari può invadere i più ampi spazi della pratica clinica. La polpa, l'osso, il periostio così come i tessuti parodontali sono una grande fonte di progenitori utilizzabili per la rigenerazione del distretto maxillo-facciale.

La presenza di strutture cellulari atte alla rigenerazione di un determinato tessuto all'interno di un innesto permette allo stesso di svolgere non solo la funzione di riempitivo ma di integrarsi completamente con le strutture residue in modo da avere un tessuto che sia identico strutturalmente e funzionalmente a quello andato perso in seguito alla noxa patogena. Da qui il ruolo svolto dai biomateriali non sarà più quello biomimetico ma sarà di sostituzione funzionale vera e propria ottenendo tessuti che saranno in grado di fronteggiare anche gli stress sopportabili solo dai tessuti nativi.

BIBLIOGRAFIA

- Papaccio G, Graziano A, d'Aquino R et al. Long-term cryopreservation of dental pulp stem cells (SBP-DPSCs) and their differentiated osteoblasts: a cell source for tissue repair. *J Cell Physiol* 2006;208:319-25.
- Bianco P, Robey PG. Stem cells in tissue engineering. *Nature* 2001;414:118-21.
- Calvi LM, Adams GB, Weibrecht KW et al. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature* 2003;425:841-6.
- Zhang J, Niu C, Ye L et al. Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size. *Nature* 2003;425:836-41.
- Laino G, d'Aquino R, Graziano A et al. A new population of human adult dental pulp stem cells: a useful source of living autologous fibrous bone tissue (LAB). *J Bone Miner Res* 2005;20:1394-402.
- Kerkis I, Kerkis A, Dozortsev D et al. Isolation and characterization of a population of immature dental pulp stem cells expressing OCT-4 and other embryonic stem cell markers. *Cells Tissues Organs* 2006;184:105-16.
- Jo YY, Lee HJ, Kook SY et al. Isolation and characterization of postnatal stem cells from human dental tissues. *Tissue Eng* 2007;13:767-73.
- Lensch MW, Dameron L, Schlaeger TM. Pluripotent stem cells and their niches. *Stem Cell Rev* 2006;2:185-201.
- Mitsiadis TA, Barrandon O, Rochat A et al. Stem cell niches in mammals. *Exp Cell Res* 2007;313:3377-85.
- Sinanan AC, Hunt NP, Lewis MP. Human adult craniofacial muscle-derived cells: neural-cell adhesion-molecule (NCAM; CD56)-expressing cells appear to contain multipotential stem cells. *Biotechnol Appl Biochem* 2004;40:25-34.
- Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *J Endod* 2008;34:166-71.
- Saito T, Ogawa M, Hata Y et al. Acceleration effect of human recombinant bone morphogenetic protein-2 on differentiation of human pulp cells into odontoblasts. *J Endod* 2004;30:205-8.
- Tarnow DP, Wallace SS, Testori T et al. Maxillary sinus augmentation using recombinant bone morphogenetic protein-2/acellular collagen sponge in combination with a mineralized bone replacement graft: a report of three cases. *Int J Periodontics Restorative Dent*;30:139-49.
- d'Aquino R, De Rosa A, Lanza V et al. Human mandible bone defect repair by the grafting of dental pulp stem/progenitor cells and collagen sponge biocomplexes. *Eur Cell Mater* 2009;18:75-83.
- Laino G, Graziano A, d'Aquino R et al. An approachable human adult stem cell source for hard-tissue engineering. *J Cell Physiol* 2006;206:693-701.
- Gronthos S, Mankani M, Brahimi J et al. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:13625-30.
- Graziano A, d'Aquino R, Laino G et al. Dental pulp stem cells: a promising tool for bone regeneration. *Stem Cell Rev* 2008;4:21-6.
- Srisawasdi S, Pavasant P. Different roles of dexamethasone on transforming growth factor-beta1-induced fibronectin and nerve growth factor expression in dental pulp cells. *J Endod* 2007;33:1057-60.
- Iohara K, Zheng L, Ito M et al. Side population cells isolated from porcine dental pulp tissue with self-renewal and multipotency for dentinogenesis, chondrogenesis, adipogenesis, and neurogenesis. *Stem Cells* 2006;24:2493-503.
- Ueno A, Yamashita K, Miyoshi K et al. Soluble matrix from osteoblastic cells induces mineralization by dental pulp cells. *J Med Invest* 2006;53:297-302.
- Hosoya A, Nakamura H, Ninomiya T et al. Hard tissue formation in subcutaneously transplanted rat dental pulp. *J Dent Res* 2007;86:469-74.
- Otaki S, Ueshima S, Shiraishi K et al. Mesenchymal progenitor cells in adult human dental pulp and their ability to form bone when transplanted into immunocompromised mice. *Cell Biol Int* 2007;31:1191-7.
- d'Aquino R, Graziano A, Sampaolesi M et al. Human postnatal dental pulp cells co-differentiate into osteoblasts and endothelial cells: a pivotal synergy leading to adult bone tissue formation. *Cell Death Differ* 2007;14:1162-71.
- Graziano A, d'Aquino R, Laino G et al. Human CD34+ stem cells produce bone nodules in vivo. *Cell Prolif* 2008;41:1-11.
- Graziano A, d'Aquino R, Cusella-De Angelis MG et al. Scaffold's surface geometry significantly affects human stem cell bone tissue engineering. *J Cell Physiol* 2008;214:166-72.
- d'Aquino R, De Rosa A, Laino G et al. Human dental pulp stem cells: from biology to clinical applications. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* 2009;312B:408-15.

REDAZIONALE???



L'efficienza incontra l'alta tecnologia: l'impianto iSy.

Con soli tre diametri (3.8/4.4/5.0 mm) in tre lunghezze (9/11/13 mm) e tre tipi di confezioni con 1, 2 o 4 impianti, iSy semplifica la scelta del giusto impianto. Niente di più facile: frese, cappette di guarigione e cappette multifunzionali sono incluse.

L'impianto iSy colpisce per la base in titanio pre-montata. Dopo il posizionamento dell'impianto, la base rimane sull'impianto senza l'utilizzo di viti. La connessione conica tra impianto e abutment ha un diametro interno per tutte le misure d'impianto. Una misura per tutti.



Alta.Tech
BIOTECHNOLOGIES

info@alta-tech.it | www.alta-tech.it