COLONIZZAZIONE CELLULARE DIFFERENZIALE NELLE MEMBRANE e-PTFE. STUDIO AL SEM

Sandro Siervo, Cristian Coraini, Ezio Gheno, Paolo Siervo*, Alessandra Falleni**

** Università degli Studi di Milano, Scuola di Specialità in Chirurgia Maxillo-Facciale, Direttore professor R. Brusati*
*** Università degli Studi di Pisa, Centro Interdipartimentale di Microscopia Elettronica, Direttore professor V. Gremigni*

Fino agli anni Ottanta, uno dei principali obiettivi in odontoiatria era rappresentato dalla realizzazione di una corretta osteointegrazione[1,3]. Negli anni Novanta, con lo sviluppo di nuove tecniche che hanno permesso una diversa gestione dei tessuti duri e molli del cavo orale, si è assistito a un cambiamento, consistente nella ricerca di un corretto posizionamento delle radici artificiali implantari[4,5].
Ciò ha comportato la scoperta e l'individuazione di siti nei quali le condizioni dei tessuti duri e molli del cavo orale non sono ideali per il posizionamento degli impianti. L'obiettivo terapeutico primario consiste quindi nel ricreare un corretto sostegno da parte dei tessuti.
Le tecniche rigenerative si sono sviluppate con questo scopo[6,7].
Tali strategie terapeutiche hanno quindi un obiettivo comune: una volta posizionata in corrispondenza del difetto osseo, la membrana, agendo come una barriera, consente la crescita e l'incremento dell'osso stesso, impedendo la penetrazione e lo sviluppo nel difetto da parte dei tessuti molli, capaci di guarire e di proliferare più velocemente. In questo modo si verifica la rigenerazione del tessuto osseo.
Gli ottimi risultati, ottenuti nella rigenerazione ossea guidata (GBR) tramite membrane non riassorbibili e-PTFE, sono stati ben documentati in numerosi studi sperimentali condotti su animali[8]. Questi hanno suggerito il loro impiego nella pratica clinica. L'osservazione clinica più comune nella seconda fase chirurgica, quando la membrana viene rimossa dal sito originale, è che il difetto è stato riempito da un tessuto molto simile a tessuto osseo.
Altri studi su animali hanno dimostrato, istologicamente, che questo tessuto è effettivamente osso. Nell'uomo, per motivi etici, la valutazione qualitativa del tessuto rigenerato è generalmente affidata a criteri clinici[10], e pertanto l'evidenza che il tessuto sottostante la membrana rappresenti effettivamente osso è stata posta talvolta in discussione. Inoltre, il contatto diretto tra l'osso rigenerato e la membrana è tutt'ora oggetto di dibattito. Nel processo rigenerativo svolgono chiaramente un ruolo fondamentale le cellule e i tessuti in diretto contatto con la membrana.
A questo proposito è lecito chiedersi se le cellule aderenti alla membrana costituiscano una singola popolazione oppure no. Se vi è al di sotto della membrana una popolazione cellulare prioritaria e, se esiste, quale ruolo assume nell'intero processo rigenerativo. Inoltre, se al di sotto della membrana vi sono diversi tipi di cellule, allora potrebbe esistere una cooperazione tra loro; la stessa cosa si può dire per quanto riguarda la porzione gengivale della membrana.
L'obiettivo di questo studio condotto sull'uomo è stato quello di analizzare le membrane e-PTFE rimosse dai rispettivi siti chirurgici, una volta trascorso un adeguato periodo di tempo, al fine di determinare i tipi di cellule che vi erano aderiti. Sono state studiate le seguenti porzioni delle membrane: la porzione centrale o occlusale e la porzione esterna o gengivale.
Allo scopo di effettuare un esame di tipo qualitativo e a causa dell'estrema scarsità di tessuti rimossi insieme alla membrana si è dovuto optare per un'analisi al microscopio elettronico a scansione (SEM).
Un problema clinico in queste terapie rigenera-

tive è rappresentato dall'esposizione precoce e dalla contaminazione batterica delle membrane. L'infezione susseguente può interferire sino ad annullare i processi rigenerativi. Per questo motivo è stata indagata anche la colonizzazione batterica in membrane esposte.

MATERIALI E METODI

Un primo gruppo di 11 pazienti (6 maschi e 5 femmine) è stato trattato posizionando membrane e-PTFE (*Gore-Tex*, W.L. Gore e Associati, Flagstaff, AZ) e impianti osteointegrati.
Sono state posizionate 8 membrane nell'arcata superiore (4 in regione 1.4, 4 in regione 2.4) e 3 nell'arcata inferiore (in regione 3.4).
Prima del trattamento chirurgico sono state effettuate radiografie standard (OPT ed endorali riferite alla regione pertinente) e rilevate le impronte di studio, per completare i dati clinici raccolti circa l'ammontare della fenestrazione vestibolare esistente.
Tutti i pazienti trattati erano in apparenti buone condizioni generali di salute, e nessuno di loro aveva note cliniche precedenti di rilievo.
A ciascun paziente sono stati somministrati 1200 mg di bacampicillina (*Bacacil* 1200 mg, Pfizer, Roering, Latina) un'ora prima del trattamento chirurgico, e successivamente è stato mantenuto un regime giornaliero di 2400 mg per un totale di 6 giorni: questo allo scopo di usare per tutti i pazienti un protocollo farmacologico standard in grado di contrastare eventuali infezioni post-chirurgiche.
Il giorno dell'intervento ai pazienti è stato chiesto di sciacquare il cavo orale per 5 minuti con clorexidina gluconato allo 0,2% (*Corsodyl*, ICI PLC, ICI Pharmaceuticals, Macclesfield, Cheshire, G.B.). È stato scolpito un lembo a tutto spessore utilizzando la tecnica dell'incisione laterale, effettuata sul versante palatino a livello mascellare superiore, e al di sotto della giunzione muco-gengivale a livello mandibolare, come descritto in letteratura[5].
Questo metodo consente al chirurgo di gestire al meglio il lembo, garantendo un'ottima guarigione primaria dei tessuti molli, e limitando il pericolo di un'eventuale esposizione della membrana. Dopo il corretto posizionamento implantare, seguendo le indicazioni del produttore, tutti gli impianti hanno evidenziato la presenza di una fenestrazione ossea vestibolare che ha reso necessaria la rigenerazione ossea guidata, allo scopo di consentire un ancoraggio utile e a lungo termine degli impianti posizionati.
In tutti i casi era presente un difetto osseo a tre pareti, la cui base era rappresentata da spire implantari esposte, e i cui margini erano costituiti dai bordi della fenestrazione.
La misura dei difetti era di 4 mm in direzione mesio-distale, di 2 mm di profondità, e di 4 mm di estensione longitudinale.
Sui difetti sono state posizionate membrane in Gore-Tex *Oval-4* e *Oval-6*, ottenendone la stabilizzazione primaria grazie a un opportuno sistema di fissazione (*Memfix*, Straumann AG, CH-Waldenburg).
Prima di fissare le membrane all'osso sottostante è stato attentamente controllato che l'intera superficie ossea del difetto fosse completamente ricoperta dalla porzione occlusale della membrana; nei difetti più estesi sono stati impiegati viti di supporto (Memfix), allo scopo di prevenire il collasso della membrana.
Per la sutura sono stati impiegati fili in Gore-Tex, rimossi dopo 10 giorni. Per prevenire la contaminazione della membrana durante la rimozione della sutura, la porzione esposta dei fili è stata ripulita e trattata con *Corsodyl-gel* prima di essere rimossa. Tutti gli impianti hanno avuto una guarigione sommersa.
Allo scopo di standardizzare il protocollo, la chirurgia è stata svolta da uno degli autori (SS).
Le membrane sono state rimosse dopo un periodo di circa 160 giorni. È stato scolpito un lembo a spessore totale effettuando un'incisione primaria in cresta, e incisioni secondarie di svincolo verticali, ottenendo così un approccio chirurgico conservativo.
In tutti i pazienti trattati, il difetto originale (4x4x2 mm) è stato riempito da tessuto macroscopicamente somigliante a osso; al momento della rimozione delle membrane, il chirurgo ha prestato particolare attenzione a non danneggiare la loro superficie. In qualche caso è stato difficile distinguere la superficie della membrana da quella dei tessuti molli circostanti.
Subito dopo la fase di rimozione, le membrane sono state accuratamente risciacquate in soluzione fisiologica raffreddata per rimuovere le eventuali contaminazioni ematiche.
A questo punto sono state marcate in corrispondenza della porzione superficiale (lato gengivale) e della porzione profonda (lato crestale), successivamente fissate mediante glutaraldeide al 3% in una soluzione tampone 0,1 M di sodio ca-

codilato per 4 ore a 4 °C, e infine risciacquate in una soluzione tampone di sodio cacodilato, e ivi mantenute per 24 ore a 4 °C.
Dopo 24 ore le membrane sono state tagliate in piccoli pezzi con un bisturi e disidratate in una serie crescente e graduale di etanolo, e infine disidratate al punto critico in un *Balzers CPD 020*.
I campioni così ottenuti sono stati montati su supporti di alluminio con l'ausilio di una pasta d'argento, e ricoperti con oro (circa 10-15 nm di spessore) in un evaporatore *Edwards S150 B*.
I campioni sono stati osservati al SEM, *Philips 515*, impiegato sistematicamente dalla stessa persona (AF).
Un secondo gruppo di 4 pazienti è stato trattato con una membrana (Gore-Tex, Oval-4) senza la contemporanea inserzione implantare.
Il difetto a tre pareti era composto solo da un deficit osseo. In questi 4 casi non è stata ottenuta una chiusura primaria dei tessuti molli ed è stato necessario rimuovere le membrane tra il 16° e 36° giorno dal loro posizionamento. Dal momento dell'esposizione le membrane sono rimaste in situ per un minimo di 48 e un massimo di 144 ore. I campioni ottenuti sono stati trattati come descritto.

RISULTATI

Per tutti gli 11 pazienti del primo gruppo è stata ottenuta una guarigione della ferita per prima intenzione, constatando un decorso clinico simile. Dopo la seconda fase chirurgica le membrane sono apparse ben integrate con i circostanti tessuti duri e molli, osservandone la mancata adesione soltanto in limitate aree, quelle sottostanti le viti di fissazione: tali aree sono state utilizzate per la rimozione.
Dopo la rimozione è stato osservato che, in tutti i casi, il difetto originario era riempito da tessuto duro neoformato, che appariva macroscopicamente simile a tessuto osseo.
L'osservazione macroscopica delle membrane rimosse, dopo un risciacquo in soluzione salina sterile raffreddata, ha rivelato la scarsità di detriti cellulari sulla superficie occlusale. Quest'ultima mostrava un aspetto intatto, con piccole isole di materiale aderente e non, mentre le zone rimanenti mostravano penetrazioni di tessuto.
L'analisi al SEM delle 4 porzioni, la porzione porosa-lato gengivale, la porzione porosa-lato crestale, la porzione occlusale-lato gengivale e la porzione occlusale-lato crestale, mostrava differenze per tipo e densità di cellule.
Ogni singola membrana è stata analizzata in ciascuna delle 4 porzioni (tabella 1).
La porzione porosa del lato gengivale mostrava una popolazione dominante di cellule della serie rossa, i globuli rossi, che spesso formavano uno strato compatto. Una seconda popolazione cellulare era rappresentata da leucociti. Inoltre, sebbene presenti in minor numero rispetto a quanto ci si potesse aspettare, erano presenti anche granulociti neutrofili.
Raramente si osservavano anche altri tipi di cellule infiammatorie aspecifiche.
I linfociti, cellule della serie bianca con specifiche funzioni immunitarie, sono stati individuati

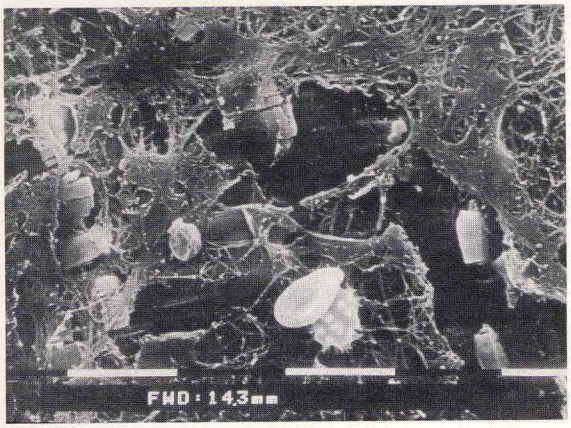
tabella 1 • COLONIZZAZIONE CELLULARE NELLE VARIE PORZIONI DELLA MEMBRANA

Porzione porosa, lato gengivale	Porzione occlusale, lato gengivale
• Strato compatto di globuli rossi, leucociti e fibroblasti ben rappresentati • Alcune cellule infiammatorie aspecifiche • Alcuni residui di linfociti • Residui di vasi sanguigni • Pochi batteri	• Alcune cellule (leucociti e globuli rossi) • Matrice filamentosa sparsa
Porzione porosa, lato crestale	**Porzione occlusale, lato crestale**
• Mancanza di uno strato compatto di globuli rossi, sebbene siano ancora presenti • Leucociti e cellule infiammatorie • Alcuni linfociti • Residui di vasi sanguigni • Trama di fibre collagene	• Alcuni globuli rossi • Alcuni leucociti e linfociti • Presenza di una matrice filamentosa molto ben definita • Tessuto osseo in differenti stadi maturativi (trabecolare, lamellare ecc.)

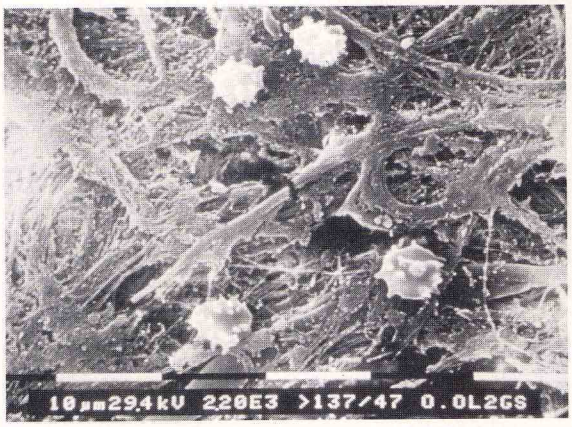
1. Porzione esterna porosa: colonizzazione da parte di fibroblasti

2. Porzione centrale della membrana: taglio sagittale

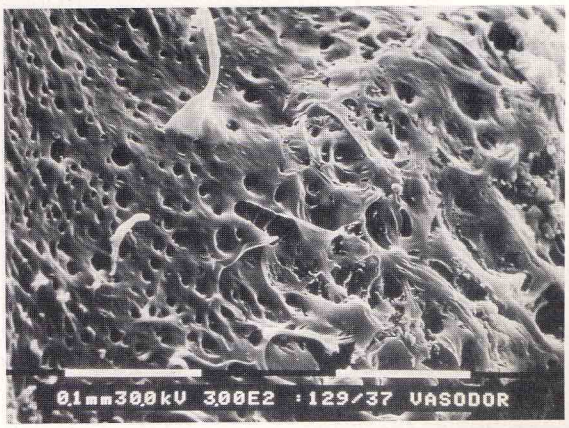
3. La membrana in intimo contatto con l'osso neoformato: visione d'insieme al SEM



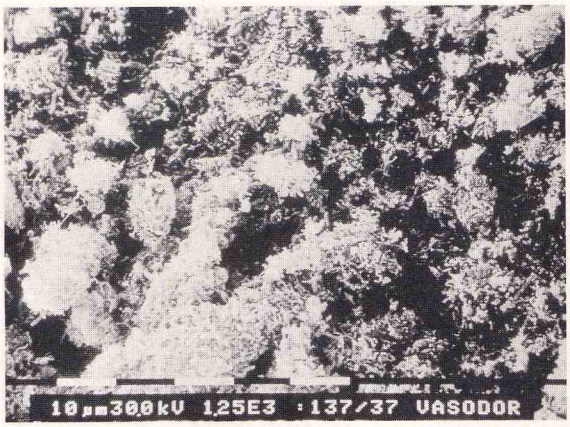
4. Osso neoformato: dettaglio



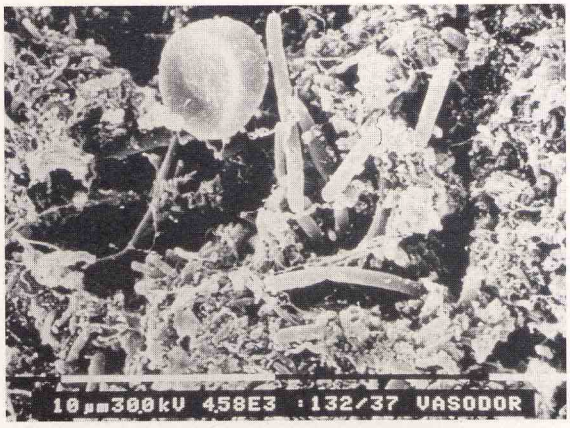
5. Trabecole ossee mature



6. Osso umano a maturazione completa avvenuta

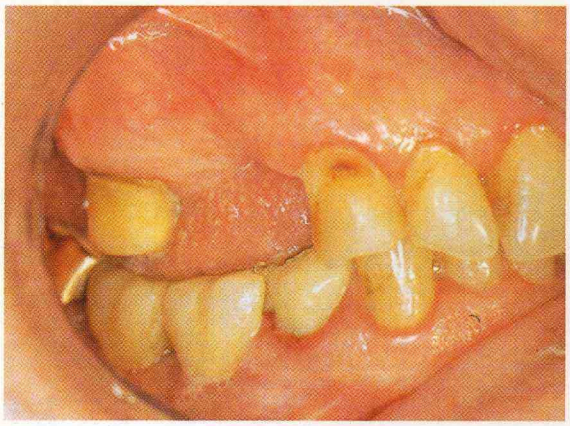


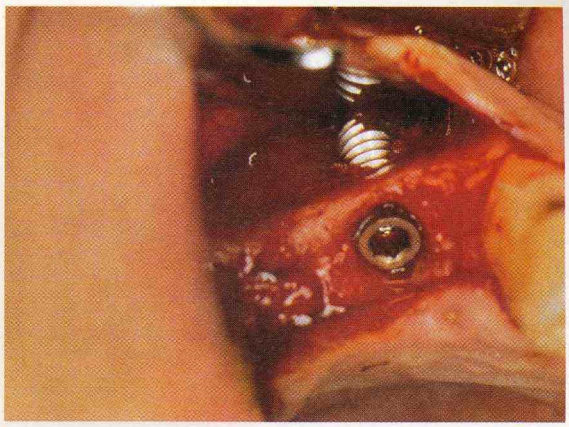
7. Superficie esterna della membrana colonizzata da batteri dopo esposizione

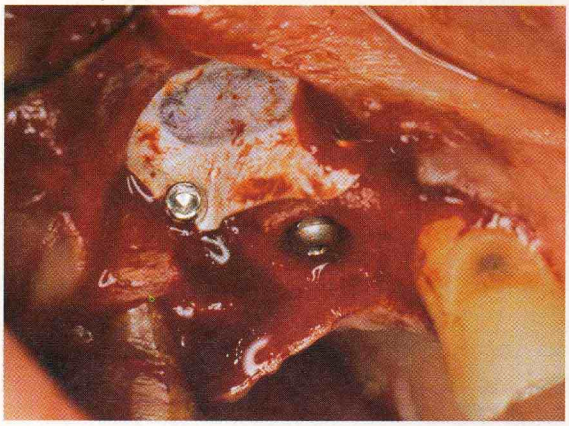


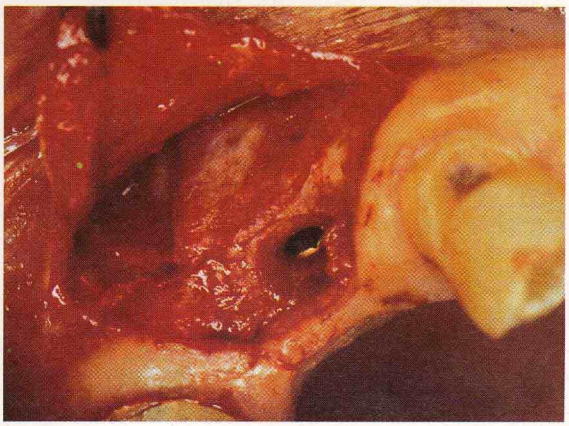
8. Superficie interna della membrana colonizzata da batteri a 72 ore dall'esposizione

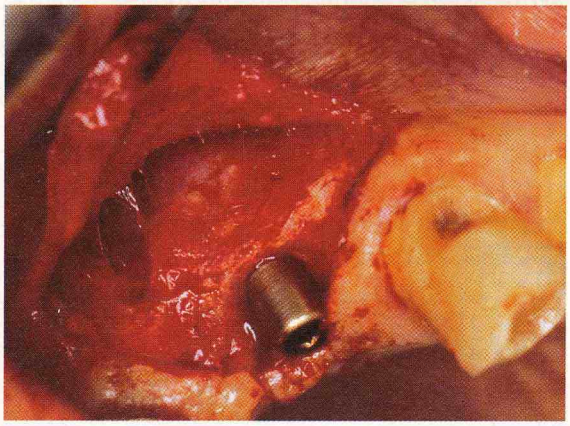
in quasi tutti i campioni esaminati. Tali cellule avevano l'aspetto morfologico di cellule statiche, quiescenti, come il volume del corpo cellulare faceva desumere.
Un'ulteriore popolazione cellulare caratteristica era quella dei fibroblasti, inseriti sopra una trama di vasi sanguigni residuati (figura 1).
Occasionalmente sono stati individuati alcuni batteri, la cui presenza era probabilmente dovuta alla contaminazione salivare. Dall'analisi delle membrane esposte (dati non mostrati) è stata esclusa la presenza di una vera e propria colonizzazione batterica: è noto, infatti, che le membrane infette mostrano sempre cellule ematiche della serie bianca colonizzate da batteri, evento non riscontrato in questi campioni.
In corrispondenza della porzione porosa del lato crestale i globuli rossi non costituivano la popolazione dominante; infatti, in nessun caso ne sono stati notati strati compatti adesi alle membrane, come viceversa è stato riscontrato nel lato gengivale della stessa porzione.
Il numero di leucociti e di cellule infiammatorie aspecifiche era maggiore rispetto a quello osservato sul lato gengivale. D'altronde, i linfociti erano quasi assenti; se presenti, avevano l'aspetto di piccole cellule quiescenti.
Sono stati individuati alcuni residui di un vaso sanguigno, ma la caratteristica distintiva di questa porzione era rappresentata da una spessa trama di fibre collagene. Quest'ultima mostrava una struttura libera in alcune aree e una struttura maggiormente organizzata e compatta in altre.
La porzione occlusale (lato gengivale) era caratterizzata, nel complesso, da una bassa densità cellulare (figura 2). Erano presenti rari linfociti sparsi e pochi globuli rossi all'interno di una matrice filamentosa estremamente libera. Quest'area appariva scarsamente colonizzata da parte delle cellule ospite. La scarsa cellularità di questa porzione di membrana è stata un'osservazione costante in tutti i campioni analizzati.
La porzione occlusale (lato crestale) risultava direttamente a contatto con il difetto osseo originario. In quest'area si riscontravano cellule ematiche della serie rossa e qualche linfocita.
Rappresentativi di quest'area erano differenti campioni ossei (figure 3-6).
Lo stesso tipo di matrice filamentosa osservata sul lato crestale della porzione porosa copriva estese aree anche di questa porzione.
Tale matrice risultava in diretto contatto con le lamelle ossee, variamente organizzate e in differenti stadi maturativi.
Lo stato di organizzazione e di maturazione dell'osso differiva nei diversi campioni. Infatti, in alcuni si osservava osso lamellare organizzato in fasci paralleli, in altri tessuto osseo maturo neoformato. In uno o più di questi campioni in cui era avvenuta la rigenerazione l'osso era a diretto contatto con la membrana.
Nel secondo gruppo di pazienti, con membrane esposte, è stata osservata un'ampia colonizzazione batterica di tutta la superficie della membrana (figure 7 e 8).
Già dopo 48 ore dall'esposizione in vivo, erano presenti batteri patogeni sui quattro lati della membrana esaminata. La struttura stessa della











9. In alto a sinistra, situazione iniziale

10. In alto a destra, posizionamento dell'impianto con ampia fenestrazione vestibolare

11. Sopra a sinistra, posizionamento della membrana con viti di fissazione

12. Sopra, osso neoformato alla riapertura

13. A lato, la vite di guarigione in situ: si confronti con la figura 10

membrana tendeva a scomporsi, non fungendo da filtro per i batteri. Sia sul lato crestale sia sul lato gengivale della membrana si osservavano leucociti e soprattutto neutrofili carichi di batteri. Il tessuto osseo rigenerato era assente.
Per la visione in dettaglio delle citate osservazioni al SEM, si rimanda alla sezione iconografica.

DISCUSSIONE

Negli ultimi anni la GBR per mezzo di membrane e-PTFE ha avuto un enorme impatto in implantologia orale[11] (figure 9-13).
Per mettere in rilievo le proprietà rigenerative di questi mezzi è stato coniato il termine «effet-

to barriera». Le proprietà di barriera non sono comunque i soli requisiti necessari: infatti, le membrane devono anche essere biocompatibili, devono essere in grado di agire come mantenitori di spazio, devono ben integrarsi con i tessuti circostanti. Inoltre, pur dovendo soddisfare tutte queste richieste, devono anche essere clinicamente maneggevoli[12].

Lo studio condotto sull'uomo ha avuto lo scopo di verificare la validità di tali postulati e di scoprire se le principali funzioni della membrana in e-PTFE dipendano solo dall'effetto barriera tra i tessuti duri e molli. In tal caso si sarebbero dovute trovare differenti, ma omogenee, popolazioni cellulari sulle porzioni gengivali e crestali. In altre parole, le cellule che colonizzano la porzione esterna (porosa) o interna (occlusiva) della membrana non avrebbero dovuto differire, a condizione che venga considerato lo stesso lato (gengivale o crestale).

Al contrario, determinate popolazioni cellulari che compaiono in diversi siti della membrana possono essere interpretate come un tentativo di cooperazione cellulare interattiva per la rigenerazione del difetto esistente.

La forma della membrana è stata quindi sviluppata per soddisfare varie funzioni[13]. La porzione esterna o porosa della membrana facilita l'integrazione tissutale tramite fenomeni di accrescimento cellulare e di connessione di superfici, mentre la porzione interna o occlusale impedisce la crescita del tessuto epiteliale all'interno del tessuto osseo[14].

Questo studio ha evidenziato che le popolazioni cellulari caratteristiche della porzione porosa prospiciente il lato gengivale sono rappresentate da globuli rossi, che formano uno strato compatto, e da fibroblasti, e ciò è in accordo con quanto detto finora.

L'integrazione tissutale, inoltre, dovrebbe essere facilitata dalla presenza di sangue.

La presenza di globuli rossi non è da interpretare come un fattore dovuto alla contaminazione, ma si verifica a causa del sanguinamento localizzato durante la fase di rimozione della membrana (secondo stadio chirurgico). Se fosse invece dovuta a «contaminazione», tutte le porzioni, o almeno quelle più superficiali, dovrebbero essere contaminate con sangue e, infine, tale contaminazione dovrebbe essere diversa nei diversi campioni.

L'osservazione costante, nei diversi campioni esaminati, di uno strato di globuli rossi su un solo lato della membrana permette di dedurre che questa porzione si ricopre di una fitta trama vascolare, e che tale trama si compone di globuli rossi in strato compatto e di residui di cellule vascolari. Di conseguenza, questa rete di capillari sembra favorire la rigenerazione della porzione esterna dei tessuti.

I fibroblasti, l'altra popolazione cellulare dominante di questa porzione della membrana, giocano un ruolo importante in quanto inibiscono e ritardano la crescita epiteliale nel difetto osseo. Questo processo biologico ha prevalentemente due funzioni: legare la membrana ai tessuti sottostanti, allo scopo di prevenire indesiderate penetrazioni cellulari che impedirebbero la perfetta rigenerazione del tessuto osseo in corrispondenza del difetto, e garantire la stabilità della membrana ai tessuti circostanti, al fine di prevenire precoci stress distruttivi nel processo rigenerativo. Tali stress potrebbero infatti ostacolare la guarigione del tessuto osseo, che risulterebbe così «cicatrizzato». È metodica clinica comune, derivata da queste osservazioni, l'impiego di mini-viti e viti di fissazione per fissare e stabilizzare la membrana ai margini del difetto osseo[15].

Tali dispositivi trovano un valido sostegno nei fibroblasti, cellule che, grazie alla loro capacità di aderire a una determinata superficie e penetrarla con processi citoplasmatici, risultano le migliori candidate allo sviluppo e allo svolgimento di tale compito.

In corrispondenza della porzione porosa ma sul lato crestale, quello a contatto con i tessuti duri, lo scenario cambia drasticamente.

Pur trovando ancora la rete vascolare ematica e i globuli rossi, la componente dominante è rappresentata da un insieme di strutture fibrillari collagene caratteristiche.

Il lato crestale della membrana è quello a contatto con l'osso sottostante, e questo spiega come si possano osservare strutture che somigliano a quelle che si svilupperanno nell'osso maturo. Tali fibre collagene sparse formano la prima impalcatura di sostegno per il deposito di tessuto osseo[16]. Lo sviluppo di questa trama di fibre sul lato crestale della membrana soddisfa principalmente due obiettivi: quello di fornire alla membrana una stabilizzazione basale, con ovvi vantaggi per l'intero processo rigenerativo, e quello di costituire l'impalcatura che sostiene la rigenerazione ossea dalla periferia del difetto.

La porzione occlusale della membrana, quella a contatto con il lato gengivale, mostra a sua volta

un paesaggio diverso. Il dato principale di quest'area è rappresentato dalla scarsità di cellule. Tale osservazione è suffragata anche da uno studio sperimentale compiuto sulle scimmie[17].
Il difetto osseo originale viene isolato al di sotto del lato interno della porzione occlusale della membrana. Osservazioni macroscopiche di campioni a rigenerazione avvenuta mostrano che le cellule e i frammenti di tessuto sono attaccati a questa porzione della membrana.
Studi condotti al SEM hanno rivelato che questo tessuto potrebbe essere tessuto osseo.
È ovvio che l'analisi e l'osservazione dei campioni di osso neoformato sono della massima importanza per la corretta comprensione dell'intero processo rigenerativo.
Già 65 anni fa, Weidenreich[18] individuò tre tipi di campioni rigenerativi microscopici:
- osso a fibre parallele;
- osso lamellare;
- osso a fibre intrecciate.

La principale caratteristica dell'osso a fibre intrecciate è rappresentata dall'orientamento casuale delle fibre collagene e dalla sua rapida deposizione; quindi la spongiosa primaria è formata da osso a fibre intrecciate. Nell'osso a fibre parallele, invece, le fibre collagene hanno una deposizione fra loro parallela. Questo tipo di osso è molto importante per la corretta corticalizzazione del tessuto maturo[19].
Di solito, quando si parla di osso lamellare di III tipo lo si considera presente sia nel compartimento corticale sia in quello midollare; la peculiarietà di questo osso è rappresentata dal suo lento indice di apposizione.
È noto che, nelle ferite, la composizione cellulare è strettamente correlata all'intero meccanismo di guarigione della ferita stessa. Per questo motivo si pensava che i tipi cellulari associati alle membrane rimosse dovessero essere diversi, vista la particolare guarigione del difetto.
Questo studio conferma tale postulato, mostrando che al di sotto della porzione occlusale della membrana si possono effettivamente osservare diversi tipi di tessuto osseo. Un'ulteriore osservazione è che tale tessuto si pone in diretto contatto con la membrana.
Il tessuto osseo si trova in diversi stadi di maturazione; riconosciamo fibre collagene, strutture lamellari, trabecolari, e infine anche tessuto osseo maturo neoformato.
In tutti i campioni esaminati è stato riscontrato un gradiente di «maturazione»: alcune aree colonizzate da fibre collagene orientate casualmente appaiono in contatto con la porzione occlusale della membrana.
Aree di osso maturo sono state soprattutto osservate in vicinanza della parete ossea originale. Ciò è in accordo con il dato secondo cui la riparazione del difetto, al di sotto della membrana, inizia dal margine della parete ossea del difetto originale stesso[20]. Quindi, campioni di osso più maturi dovrebbero essere reperiti distanti dalla superficie della membrana, o più vicini al margine del difetto.
La nostra indagine ha dimostrato tale aspettativa. In altre parole, indipendentemente dalla maturazione finale dell'osso rigeneratosi, è stato sempre constatato il citato gradiente di maturazione nei diversi campioni esaminati.
A oggi non sono disponibili ulteriori descrizioni dettagliate relative ai vari tipi di tessuto osseo.
Allo scopo di eseguire una caratterizzazione chiara dei tre tipi di osso potenzialmente presenti nelle rigenerazioni ossee umane, bisognerebbe effettuare studi sperimentali che non sempre sono eticamente proponibili.
Le maggiori evidenze emerse da questo studio sono le seguenti:
- l'osso al di sotto della porzione occlusale della membrana si trova in differenti stadi maturativi;
- la membrana è altamente biocompatibile;
- le cellule aderenti alle porzioni interna ed esterna della membrana sono differenti;
- la stessa cosa vale per le cellule che colonizzano la porzione gengivale e crestale della membrana.

A causa dei suddetti problemi etici, in letteratura esistono solo pochi lavori sperimentali condotti sull'uomo, che hanno utilizzato la tecnica della microscopia elettronica a scansione per lo studio delle membrane[21,22,23,24].
L'indagine di Selvig et al.[21] è in apparente contraddizione con le nostre osservazioni.
Tale indagine non mostra una colonizzazione cellulare preferenziale delle diverse porzioni di membrana, e conferma inoltre che le popolazioni cellulari sulla superficie della membrana sono simili. Si suppone che le principali differenze esistenti tra questo studio e quello di Selvig consistano proprio nel criterio sperimentale adottato. Selvig ha infatti analizzato membrane rimosse usate per obiettivi rigenerativi parodontali, mentre in questo studio le membrane sono state impiegate unicamente in congiunzione con la tecnica della GBR. Tuttavia, le differenze di materiali impiegati, di tipi di difetti rigenerati, di

eventuali contaminazioni batteriche, di tempo trascorso tra la prima e la seconda fase chirurgica, possono spiegare le differenze riscontrate.
Dal momento che questo studio è stato condotto sull'uomo, parametri come i diversi tempi di rimozione della membrana, e le diverse misure del difetto, non sono stati considerati; per questi motivi, quindi, non abbiamo potuto svolgere un'analisi statistica compiuta.
Questo studio ha avuto il merito di aver presentato dati ottenuti dalle condizioni cliniche reali, di aver dimostrato che il tessuto rigenerato sottostante la membrana è osso e che nell'uomo sono presenti diverse fasi di guarigione.
Il secondo gruppo di pazienti, trattati semplicemente con una membrana senza il concomitante posizionamento implantare e in cui la membrana si è esposta precocemente, fornisce alcune utili indicazioni cliniche.
Il fatto che la membrana, già a 48 ore di distanza dall'esposizione, venga ampiamente colonizzata da batteri, senza differenze sostanziali nelle quattro porzioni esaminate, indica che non funziona come barriera antibatterica.
Lo studio di Simion et al.[24] aveva indicato tempi diversi per la colonizzazione batterica, ma in un modello totalmente differente.
Le conclusioni a cui si giunge sono analoghe. È evidente che in una situazione con un processo flogistico in atto non è possibile aspettarsi una rigenerazione ossea.
Il consiglio clinico che si può desumere da queste osservazioni preliminari è che, non appena l'operatore osservi un'esposizione precoce della membrana, questa deve essere immediatamente rimossa.

Ringraziamenti

Desideriamo ringraziare il professor V. Gremigni, per la lettura critica del manoscritto e per i suggerimenti espressi durante lo svolgimento del lavoro. L'assistenza tecnica di N. Colaianni, M. Iuliucci, M. Loviso, E. Ongaro e M. Samarati, così come le mansioni di segreteria svolte da M.T. Quaglia sono state eccellenti.

Abstract

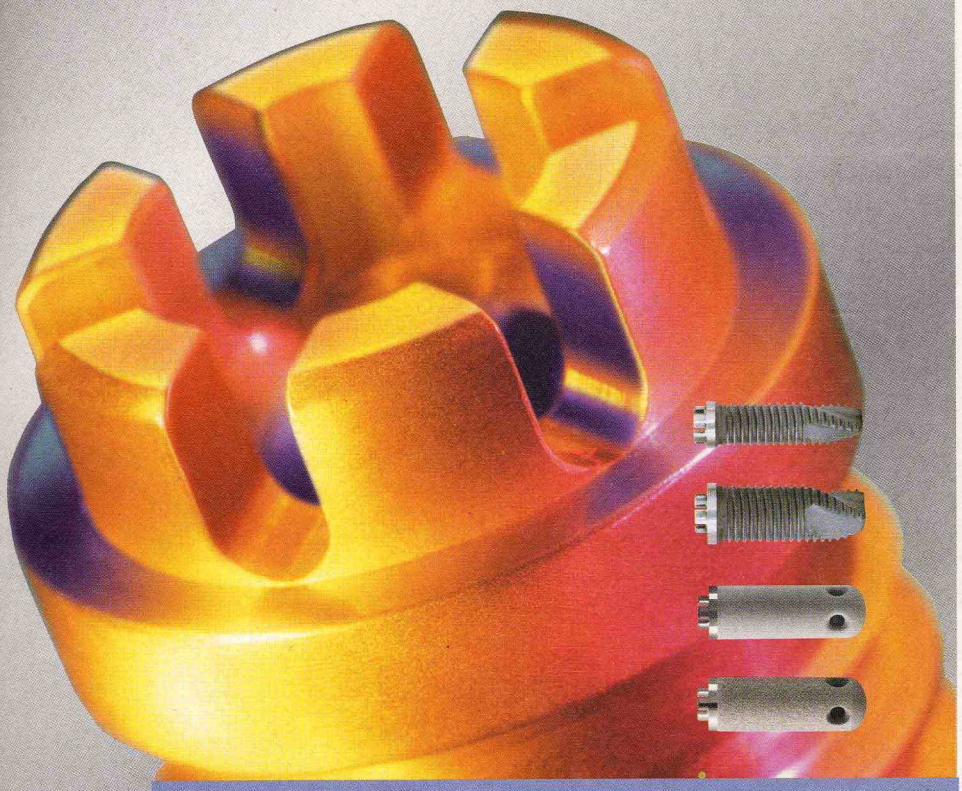
In vivo colonization of non-resorbable membranes e-PTFE (Gore-Tex, W.L. Gore and Associated, Flagstaff, AZ) in humans by different cell populations was compared. We investigated 2 groups of patients. In the first group, after obtaining guided bone regeneration, barrier membranes were retrieved, dissected in 4 parts, and processed for SEM observation; external (porous) and central (occlusive) portions were split into 2 identical parts: both the superficial surface facing the soft tissues (gingival side) and the deep surface facing the hard tissues (crestal side) were analyzed. The results suggest that in humans, cells colonizing the porous membrane portion differ in type and number from those adhering to the occlusive part. The same is true for cells adhering to the gingival vs the crestal side. The different cell populations in contact to the membrane may help to clarify the biological relevance of barrier membranes. Another major finding is that beneath the occlusive membrane frame, bone is in different maturation stages and in direct contact with the membrane texture. In the second group of patients we analyzed e-PTFE membranes exposed in different times from their placement. Membranes were removed between 48 and 144 hours after their exposure, and were analysed as described for the non exposed membranes. Our results may help the choice of the clinical attitude in cases of early exposure of these barrier membranes.

Bibliografia

1. Brånemark PI, Zarb GA, Albrektsson T (eds). Tissue integrated prostheses. Osseointegration in clinical dentistry. Chicago: Quintessence Publishing Co, 1985.
2. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Brånemark PI. A 15-Year study of osseointegrated dental implants in the treatments of the edentulous jaw. Int J Oral Maxillofac Surg 1981;10:387-416.
3. Schroeder A, Sutter F, Krekeler G (eds). Orale Implantologie. Allgemeine Grundlagen und das ITI-Hohlzylinder System. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1988.
4. Nyman S, Lang N, 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.
5. Buser D, Hirt HP, Dula K, Berthold H. GBR-Technique/Implant Dentistry: Simultaneous Application of barrier membranes around implants with periimplant bone defects. Schweitz Monatsschr Zahnmed 1992;102:1491-501.
6. Jovanovic SA, Spiekermann H, Richter EJ. Bone Regeneration around titanium dental implants in dehisced defect sites: a clinical study. Int J Oral Maxillofac Implants 1992;2:233-45.
7. Jovanovic SA, Spiekermann H, Richter EJ, Koseoglu M. Guided Tissue Regeneration around titanium dental implants. In: Laney WR, Tolman DE (eds). Tissue Integration in Oral, Orthopedic and Maxillofacial Reconstruction. Chicago: Quintessence Publishing Co Inc, 1992; 208-15.
8. Schenk RK, Buser D, Hardwich WR, Dahlin C. Healing Pattern of Bone Regeneration in membrane protected defects: a histologic study in the canine mandible. Int J Oral Maxillofac Implants 1994;1:13-29.
9. Dahlin C, Lekholm U, Lindhe A. Membrane-induced bone augmentation at titanium Implants. A report on ten fixtures followed from 1 to 3 years after loading. Int J Periodon Dent 1991;4:273-81.
10. Mellonig JT, Triplett RG. Guided Tissue Regeneration and endosseous dental implants. Int J Periodon Rest Dent 1993;2:109-19.
11. Becker W, Dahlin C, Becker BE, Lekholm U, van Steenberghe D, Higuchi K, Kultje C. The use of e-PTFE barrier membranes for bone promotion around titanium implants placed into extraction sockets: a prospective multicenter study. Oral and Maxillofacial Implants 1994;1:31-40.
12. Hardwich R, Scantlebury TV, Sanchez R, Whitley N, Ambruster J. Membrane Design Criteria for Guided Bone Regeneration of the Alveolar Ridge. In: Buser D, Dahlin C, Schenk RK (eds). Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry. Chicago: Quintessence Publishing Co Inc, 1994;101-36.
13. Siervo S. Osteointegrazione: basi teoriche e applicazioni cliniche di membrane. (DDS Thesis). Milan, Italy; School of Maxillo-Facial Surgery, University of Milan, 1995.
14. Dahlin C, Lindhe A, Gottlow J, Nyman S. Healing of Bone defects by Guided Tissue Regeneration. Plast Reconstruct Surg 1988;81:672-6.

SULZER MEDICA
Sulzer Calcitek

Spline Dental Implant System



Distributore esclusivo
DiADent

U.S. Patent No. 5,730,598
MP-1

ADA ACCEPTED American Dental Association ®
CE 0197
FDA Food and Drug Administration
ISO 9001 EN 46001 INTERNATIONAL STANDARDS ORGANIZATION

V.le Matteotti, 98 • Vittorio Veneto - TREVISO - ITALIA
Tel. 0438 555573 r.a. • Fax 0438 553181 • e-mail diadent@tmn.it

15. Buser D, Dula K, Belser U, Hirt HP, Berthold H. Localized ridge augmentation using Guided Bone Regeneration. Surgical procedure in the maxilla. Int J Periodont Rest Dent 1993;13:29-45.
16. Friedenstein AJ. Precursor cells of mechanocytes. Int Rev Cytol 1976;47:327-355.
17. Hardwich R, Scantlebury TV, Sanchez R, Whitley N, Ambruster J. Membrane Design Criteria for Guided Bone Regeneration of the Alveolar Ridge. In: Buser D, Dahlin C, Schenk RK (eds). Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry. Chicago: Quintessence Publishing Co Inc, 1994;115-18.
18. Weidenreich F. Das Knochengewebe. In: von Möllendorf W (eds). Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Vol. 2/2. Berlin: Springer Verlag, 1930;391-520.
19. Palumbo D, Palazzini S, Zaffe D, Marotti G. Osteocyte differentiation in the tybia of the newborn rabbit: an ultrastructural study of the formation of cytoplasmic processes. Acta Anat (Basel) 1990;137:350-8.
20. Schenk R. Bone Regeneration: Biologic Basis. In: Buser D, Dahlin C, Schenk RK (eds). Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry. Chicago: Quintessence Publishing Co Inc, 1994;49-100.
21. Selvig KA, Nilveus RE, Fitzmorris L, Kersten B, Khorsandi SS. Scanning Electron Microscopic observations of cell populations and bacterial contamination of membranes used for Guided Periodontal Tissue Regeneration in humans. J Periodontol 1990;61,8:515-20.
22. Cattaneo V, Vezzoni F, Silvestri M. Esame ultrastrutturale dei rapporti fra la membrana di Gore-Tex e i tessuti circostanti. Roma: Atti delle Sessioni di Ricerca, A Delfino (ed), 1991;39-41.
23. Salonen JI, Persson RG. Migration of epithelial cells on materials used in Guided Tissue Regeneration. J Periodont Res 1990;25:215-21.
24. Simion M, Baldoni M, Rossi P, Zaffe D. A comparative study on the effectiveness of e-PTFE membranes with and without early exposure during the healing period. Int J Periodont Rest Dent 1994;14,2:167-80.

In redazione da giugno 1998