

CGF-UNA PROPOSTA TERAPEUTICA

per la medicina rigenerativa

di Massimo Corigliano*, Luigi Sacco*, Edoardo Baldoni**

*International Academy
of Implantoprosthesis and Osteoconnection

** Università degli studi di Sassari.
Scuola di specializzazione in Chirurgia odontostomatologica.
Dir. Prof. Edoardo Baldoni

PAROLE CHIAVE

GF, prelievo venoso, CGF, osso autologo, siero, plasma, fibrina, particolato, piastrine, cellule staminali uni potenti

RIASSUNTO

La medicina rigenerativa è uno degli obiettivi più importanti nelle moderne terapie riabilitative. Premesso che il migliore sistema di stimolazione tissutale è quello di indurre la rigenerazione mediante fattori di crescita autologhi, a questo scopo sono stati utilizzati con relativo successo molteplici prodotti e tecniche che vanno dal Tissuocol al PRP e dal PDGF al PRF ecc. Purtroppo però nessuno di questi sistemi ha consentito globalmente una stimolazione adeguata. Il problema risiede nel fatto che in nessuna delle tecniche precedentemente menzionate viene utilizzato completamente il potenziale riparativo del sangue intero. Con il CGF si cerca di colmare questa lacuna applicando ogni fase sanguigna, adeguatamente separata e resa disponibile individualmente alla biostimolazione delle cellule o dei tessuti di sua competenza.

INTRODUZIONE

La volontà e la necessità di poter realizzare la ricostruzione di porzioni di tessuto danneggiato o perduto è da sempre uno degli aspetti terapeutici maggiormente studiati dalla medicina moderna.

In odontoiatria, con l'avvento della GBR c'è stato un notevole impulso sulla ricerca dei materiali e dei fattori di crescita applicabili alle tecniche rigenerative ossee (1-29). Si è passati quindi attraverso diverse tecniche e soprattutto mediante l'uso di differenti tipi di materiali naturali e di sintesi per costruire sia le membrane che i riempitivi cavitari.

Vediamo quindi che sono stati impiegati dal Gore-tex al pericardio, dall'idrossiapatite ai biovetri, dal fosfato tricalcico all'acido poliglicolico, dall'osso animale a quello umano di banca e molti altri materiali, tutti con l'intento di biostimolare o osteoindurre una rigenerazione ossea ma che alla fine funzionano bene soprattutto come riempitivo.

Infatti, tutti questi materiali, che rappresentano la storia della GBR, hanno in comune un dato fondamentale: *non sono vivi*.

Forse questo particolare sembra di poco conto ma ai fini di una reale osteoinduzione o di una rigenerazione ossea diventa fondamentale.

Nella medicina rigenerativa i fattori che ne promuovono il fenomeno sono molteplici e soprattutto sono gestiti dal metabolismo biochimico ed ormonale del paziente.

Di seguito elenchiamo alcuni dei fattori che concorrono alla rigenerazione tissutale

LE CELLULE STAMINALI

Esse rispondono ad una scala di capacità proliferativa con differenti potenzialità in base allo stato di differenziazione e sono classificabili in:

- Progenitrici di altre cellule
- Indifferenziate
- Non specializzate
- A proliferazione illimitata o prolungata

Le cellule staminali, sotto stimoli adeguati possono differenziarsi e specializzarsi, quindi esprimono caratteristiche:

- Totipotenti
- Pluripotenti
- Unipotenti

Le cellule staminali unipotenti sono presenti nel sangue

MODULATORI LOCALI NATURALI

I Modulatori locali prodotti per la stimolazione ed il rimodellamento osseo più conosciuti sono:

Insulin-Like Growth Factors (IGFs)

I fattori di crescita insulino-simili sono polipeptidi ormono-dipendenti e si distinguono in IGF-I e IGF-II. Trovano espressione elevata nel periostio, nel callo fibroso delle fratture, nell'osso ectopico indotto da matrice ossea demineralizzata. Sono prodotti dalle cellule ossee, ma possono essere incorporati nella matrice calcificata e rilasciati durante il riassorbimento.

Esercitano i loro effetti principalmente sui precursori degli osteoblasti, stimolandone la differenziazione e la proliferazione, ma anche sugli osteoblasti stessi che sono stimolati alla replicazione. Promuovono inoltre l'espressione di collagene tipo I e la sintesi della matrice ossea, contribuendo ad accelerare i processi di guarigione.

Fibroblast Growth Factors (FGFs)

Sono un famiglia numerosa (da FGF-1 a FGF-18) di polipeptidi, i più importanti tra i quali sono FGF-a (acido) e FGF-b (basico), detti anche fattori di crescita legati all'eparina.

Trovano espressione nei meccanismi di guarigione ossea dopo le fratture, oltre che durante lo sviluppo dei sistemi vascolare, nervoso e scheletrico, e in una varietà di tessuti normali e neoplastici.

Favoriscono l'angiogenesi, la chemiotassi e la mitogenesi, stimolando la crescita di fibroblasti, mioblasti, osteoblasti, cellule endoteliali e neuronali.

Le citochine

Le citochine, soprattutto IL-1 e TNF-a, sono potenti stimolanti del riassorbimento osseo:

- IL -1 agisce direttamente sull'osso dove, attraverso l'attivazione dei fattori di trascrizione NF-kB, induce la sintesi di altre sostanze osteo-riassorbenti, come IL-6, il TNF- α , e PGE₂;
- IL -6 e TNF- α oltre a stimolare il riassorbimento dell'osso, promuovono anche la replicazione delle cellule osteoclastiche (osteoclastogenesi);
- le PGE₂ da una parte mediano il riassorbimento osseo indotto dall'IL-6 e, dall'altra, promuovono il reclutamento di cellule della linea osteoblastica, stimolando la sintesi del collagene.
- Il VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) è un potente promotore di crescita vascolare. Esso è prodotto dalle cellule del sangue periferico (macrofagi e cellule T), ma soprattutto dalle piastrine. Ha un ruolo diretto nel controllo del comportamento delle cellule endoteliali, ed in particolare nella loro proliferazione, migrazione, specializzazione. Infatti, la semplice presenza di questa citochina è sufficiente a stimolare l'angiogenesi.

I FATTORI DI CRESCITA DELL'OSSO (GF)

E' stato già evidenziato come la rigenerazione ossea avviene sotto l'influenza sistemica di ormoni come il Paratormone, la Calcitonina e la vitamina D ecc, che concorrono al processo di riassorbimento e neoapposizione ossea.

I fattori più attivi vengono codificati come BMPs (Bone Morphogenetic Proteins) e la loro funzione consiste nello stimolare e mediare la crescita di cellule bersaglio, tramite una interazione tra le interfacce ligante-recettore cellulare di superficie (Andreana e Ciancio 1993).

I fattori di crescita sono presenti in differenti tessuti o parti di esse come ad esempio:

- nel sangue e il plasma
- nella matrice ossea

dove hanno un ruolo importante nella osteoneomorfogenesi e la riorganizzazione e rimodellamento, oltre a partecipare ai processi di riparazione ossea.

I fattori di crescita insulino-simili

I fattori di crescita insulino-simili (IGF-I e IGF-II), o somatomedine, stimolano l'attività degli osteoblasti dai quali sono prodotti e aumentano la produzione di collagene.

L'Osteoprotegerina (OPG)

L'osteoprotegerina (OPG) è una citochina della famiglia dei Tumor Necrosis Factors che, a differenza del TNF- α , esplica una potente azione inibente l'osteoclastogenesi;

I Transforming Growth Factors (TGF)

I transforming growth factors (TGF) comprendono una superfamiglia di molecole deputate al controllo di molteplici aspetti delle funzioni cellulari. Sono sintetizzati da piastrine, macrofagi, cellule endoteliali, cheratinociti e condrociti. I TGFs- β sono principalmente espressi da parte degli osteoblasti maturi e in piena attività, sia durante lo sviluppo e la crescita ossea, sia durante la guarigione delle fratture. Tra questi fattori, in particolare, il TGF- β ha un ruolo preminente sulla crescita e differenziazione di numerose cellule, compresi gli osteoblasti. La sua produzione negli osteoblasti è stimolata da vitamina D, PTH, estrogeni e testosterone. Questo fattore, inoltre, inibisce il riassorbimento osseo, prevenendo la formazione dei precursori osteoclastici e stimolando l'apoptosi degli osteoclasti maturi;

Le proteine morfogenetiche dell'osso (BMP)

Le proteine morfogenetiche dell'osso (BMP) stimolano le cellule pluripotenti a differenziarsi in cellule produttrici di tessuto cartilagineo e osseo. Sono espresse durante l'età dello sviluppo e della crescita ma anche nel callo osseo in seguito a fratture e

localmente in seguito all'impianto di substrati programmabili. Inoltre, sono coinvolte nella morfogenesi e nello sviluppo di numerosi altri tessuti e organi, quali follicoli piliferi, cuore, rene, oociti, prostata e, particolare importante, sono implicate nella morfogenesi dei tessuti del dente.

I fattori di crescita dei fibroblasti (FGF)

I fattori di crescita dei fibroblasti (FGF) svolgono un ruolo importante nello sviluppo e nella rigenerazione dell'osso e nel processo di riparazione delle fratture; la loro attività si esplica soprattutto attraverso la stimolazione dell'angiogenesi ossea, evento critico per la formazione del tessuto osseo.

MODULATORI LOCALI DI SINTESI

I Modulatori locali di sintesi per la stimolazione ed il rimodellamento osseo sono stati oggetto di numerose ricerche e nel tempo abbiamo visto la realizzazione di numerosi sistemi di preparazione e concentrazione di fattori di crescita che elenchiamo di seguito.

Tecnologie note

- **Colla di Fibrina** (Tissucol Baxter)
- **Concentrato di Piastrine cPRP** (Marx 1998)
- **Plasma Ricco di Piastrine (PRP)**
- **Plasma Ricco di fattori di crescita** (PRGF E.Anitua 1998)
- **Plasma Ricco di Fibrina** (PRF J.Choukroun 2001)
- **C.G.F.** (Concentrated Growth Factors 2006, IAIO)

Colla di fibrina

La colla di fibrina umana è un collante biologico termotattato, atossico e ben tollerato. La colla, contiene fibrinogeno e fattore XIII (ricostituito a 37° con una soluzione di aprotinina, che ha la funzione di determinare un più lento riassorbimento inibendo la fibrinolisi locale). La trombina bovina viene ricostituita in una soluzione di cloruro di calcio alla concentrazione di 4 U.I./ml o di 500 U.I./ml. Le soluzioni, mantenute a 37°, si uniscono per formare la colla di fibrina all'atto dell'impiego. Per unire le due sostanze viene utilizzata una siringa a due vie, detta duploject, che consente alle due soluzioni di reagire solo al momento della fuoriuscita dall'ago.

Attualmente la colla di fibrina più utilizzata è il Tissucol prodotto dalla Baxter, dove il concentrato di fibrinogeno si ottiene attraverso ripetuti passaggi di precipitazione termo-chimica e le concentrazioni di fibrinogeno e di fattore XIII sono molto elevate. Le soluzioni di trombina sono preparate con plasma umano ⁽³⁰⁻⁴⁹⁾.

Plasma Ricco di Piastrine (PRP)

Il concentrato piastrinico, ottenuto dal sangue del paziente, permette l'utilizzo di fattori di crescita autologhi (PDGF, IGF-I, IGF-II, TGF- β 5), non immunogeni né tossici, in grado di accelerare i normali processi di rigenerazione ossea ed incrementare la qualità e quantità di osso neoformato. Quando il concentrato piastrinico, allestito sotto forma di gel, viene mescolato con materiale di riempimento, di cui la migliore espressione è l'osso autologo, si ottiene un tessuto da innesto con caratteristiche ottimali, per facilità di stabilizzazione e tempi di mineralizzazione, in teoria, nettamente superiori a quelle dell'osso autogeno da solo.

La tecnica richiede il prelievo di circa 60 ml di sangue venoso del paziente e permette di ottenere entro 45 minuti un concentrato piastrinico mediante due diverse fasi di centrifugazione, il cui prodotto intermedio è un *Plasma Ricco di Piastrine (PRP)*.

- Per la sua preparazione è necessario utilizzare uno specifico apparecchio da laboratorio d'analisi e la collaborazione di un ematologo.

Ottenuto il concentrato piastrinico finale (PRP), questo viene attivato per formare il gel da innesto, mediante aggiunta di Cloruro di Calcio 80 mM e Botropase ⁽⁵⁰⁻¹⁶²⁾.

Il PRP, in pratica, è quindi un concentrato di piastrine dalla cui distruzione si liberano i fattori di crescita chiamati *Platelet Derived Growth Factors (PDGFs)* che promuovono l'osteoneogenesi.

I PDGF promuovono l'angiogenesi ed agiscono sui precursori degli osteoblasti, sui quali inducono una notevole attività mitogena.

Aumentano pertanto il numero delle cellule della linea osteoblastica, sono in grado di stimolare gli osteoblasti stessi alla replicazione cellulare e alla sintesi di collagene, ma la loro funzione differenziativa e morfogenetica nei confronti del tessuto osseo è senz'altro inferiore rispetto a quella di altri fattori di crescita.

In effetti la bibliografia internazionale documenta una crescita ossea, indotta dal PRP, di circa il 10% del volume applicato. Quindi, nonostante le sue potenzialità biologiche, il PRP ha un rendimento osteoneogenico relativamente scarso (Malchiodi 2001, CED Rome, bib. 163-166).

Per questo motivo si sono sviluppate delle tecnologie alternative come ad esempio il PRF.

Il Plasma Ricco di fattori di crescita

Platelet Rich Growth Factors (PRGF E. Anitua 1998)

Il PRGF è una fase prodotta dalla centrifugazione del sangue venoso situata sotto il Buffy Coat e viene prelevata mediante una pipetta da laboratorio.

L'uso del PRGF, miscelato con biomateriali, buffy coat o usato direttamente in loco, consente la biostimolazione del tessuto da rigenerare, potenziando l'azione riparativa locale ⁽¹⁶⁷⁻²¹⁷⁾.

Il Plasma Ricco di Fibrina:

Platelet Rich Fibrin (PRF, Choukroun): è un prodotto realizzato utilizzando sangue fresco venoso.

Per realizzarlo, come dai protocolli descritti da Choukroun et al dal 2001(214-257), è sufficiente centrifugare il sangue per separarne i componenti.

Il PRF, essendo un prodotto del sangue che non subisce manipolazioni, può essere realizzato nello studio odontoiatrico, a patto che si utilizzi una centrifuga certificata per tale uso.

Il PRF si presenta come un gel denso e ricco di fibrina, resistente alla trazione ed al taglio. Non necessita di copertura e può fungere da membrana.

Il meccanismo di funzionamento del PRF è la biostimolazione del tessuto su cui è applicato. Un effetto notevolmente apprezzato del PRF è l'azione analgesica, antalgica ed antinfiammatoria.

Il PRF viene realizzato mediante centrifugazione del sangue per circa 12 minuti a 2700 rev/min e, una volta separato dagli altri componenti del sangue, viene stoccato temporaneamente in ambiente refrigerato a temperatura costante compresa tra i 12 ed i 15 °C.

CONCENTRATED GROWTH FACTORS (CGF)

Poiché crediamo nelle straordinarie capacità rigenerative indotte dal sangue, e sapendo che tutti componenti necessari alla rigenerazione sono liberi e circolanti, abbiamo studiato come utilizzarne tutte le sue potenzialità riparative e rigenerative, non limitandoci all'uso di sole alcune porzioni, come è stato fino ad ora proposto dagli altri protocolli.

Il CGF è un protocollo terapeutico che si ottiene, a differenza del PRP, PRGF e PRF, per separazione del sangue venoso, a temperatura costante, mediante un rotore a velocità alternate e controllate con una accelerazione sempre al di sotto dei RCF300.

È caratteristico del CGF osservare quattro fasi:

1. una fase superiore rappresentata dal siero (plasma sanguigno senza fibrinogeno e fattori della coagulazione)
2. una fase intermedia composta da un blocco di fibrina polimerizzata molto grande e densa
3. una fase liquida contenente GF, cellule della linea bianca e cellule staminali in attesa di stimolazione per la tipizzazione definitiva
4. la porzione rossa inferiore è rappresentata da un coagulo viscoso, denso e ricco di piastrine (Fig. 1).

Descriviamo di seguito le 4 fasi principali e i loro componenti:

1) Siero

Il siero è la parte più leggera e liquida del sangue.

È fondamentale per la nostra tecnica perché rappresenta il liquido di amalgamazione per tutti gli innesti, oltre a fornire molti componenti ed attivatori biochimici.



Fig. 1 Immagine di una provetta in cui il sangue è stato trasformato nelle 4 fasi del CGF: siero, Buffy coat, GF e stem cells, coagulo

È privo di fibrinogeno e scarso di cellule. Va mantenuto fresco e miscelato rapidamente per non incorrere nella denaturazione delle proteine.

Ha colore giallo paglierino limpido ed è composto da:

- 92% H₂O
- 7% proteine, sali minerali, CO₂:
- Proteine: albumina, Anticorpi
- Nutrienti: glucidi, aminoacidi, lipidi
- Enzimi
- Ormoni
- Elettroliti inorganici

il siero viene utilizzato per lavare le cavità da rigenerare e come liquido coprente e protettivo per tutte le porzioni rigenerate.

2) Buffy coat di FIBRINA

Grazie alla rotazione calibrata eseguita con il separatore di fasi Medifuge (Silfradent, Italia) viene realizzato, dalla polimerizzazione di molecole di fibrinogeno (FG) sotto forma di gel, il blocco di fibrina composto da reti polimeriche tridimensionali a fibre intrecciate, tutte raccolte in un'unica fase.

Durante la polimerizzazione le fibre crescono di diametro fino alla fine della reazione (Figg. 2-3).

Questo concetto spiega perché è importante impostare le apparecchiature in maniera specifica garantendo il massimo dello sfruttamento delle potenzialità del sangue controllando i seguenti parametri:

- Velocità
- Temperatura
- Tempo
- Accelerazione e velocità controllata
- Accelerazione Gravitazionale di circa RCF200

La realizzazione e la crescita del blocco di gel di fibrina, durante la rotazione, consente in fase di polimerizzazione una crescita volumetrica delle catene in tutte le direzioni (Fig. 4).

In questo modo vengono imbrigliati molti componenti corpuscolati che ne determinano le numerose attività terapeutiche come:

- citochine plasmatiche e piastriniche: effetto riparativo, antinfiammatorio e antidolorifico espresso durante la riparazione (TNF- α),
- piastrine: trasmissione dei segnali e liberazione di GF. I più importanti sono il PDGF-BB, il TGF β 1-3 e l'IGF-1 (Fig. 5).

Otteniamo quindi dei blocchi di gel di fibrina di notevole volume e ottima resistenza che potranno essere usati come:

- riempitivo cavitario
- sostegno per membrane
- membrane autologhe
- particolato da miscelare ad altro materiale da riempimento

Questo si traduce in una grande lavorabilità, oltre che ad una elevata capacità di induzione rigenerativa, ed una maggiore versatilità d'uso del blocco di fibrina nei suoi differenti usi che spaziano appunto dal blocco intero al particolato o alla membrana.

3) Fattori di Crescita e Cellule Staminali unipotenti

sospese appena sotto il buffy coat e prima della porzione di coagulo densa. Questa fase può essere aspirata mediante una pipetta da laboratorio e miscelata direttamente con osso autologo per ottenere un innesto attivato estremamente performante.

4) Coagulo

Nella tecnica CGF la fase rossa è composta dal concentrato di globuli rossi, bianchi, dalle piastrine e dai fattori di crescita. Ha un aspetto di gel denso di colore rosso bruno e può essere utilizzato assoluto o miscelato con il particolato di fibrina e/o con osso autologo o eterologo nei riempimenti cavitari molto voluminosi. Possiamo quindi dire che il CGF nella medicina rigenerativa va visto come un sistema di stimolazione multifattoriale, infatti se ne utilizzano tutte le fasi ed i componenti a seconda delle necessità specifiche. Questa versatilità ed applicabilità multifunzione lo caratterizza e lo differenzia da tutte le tecniche proposte fino ad ora.

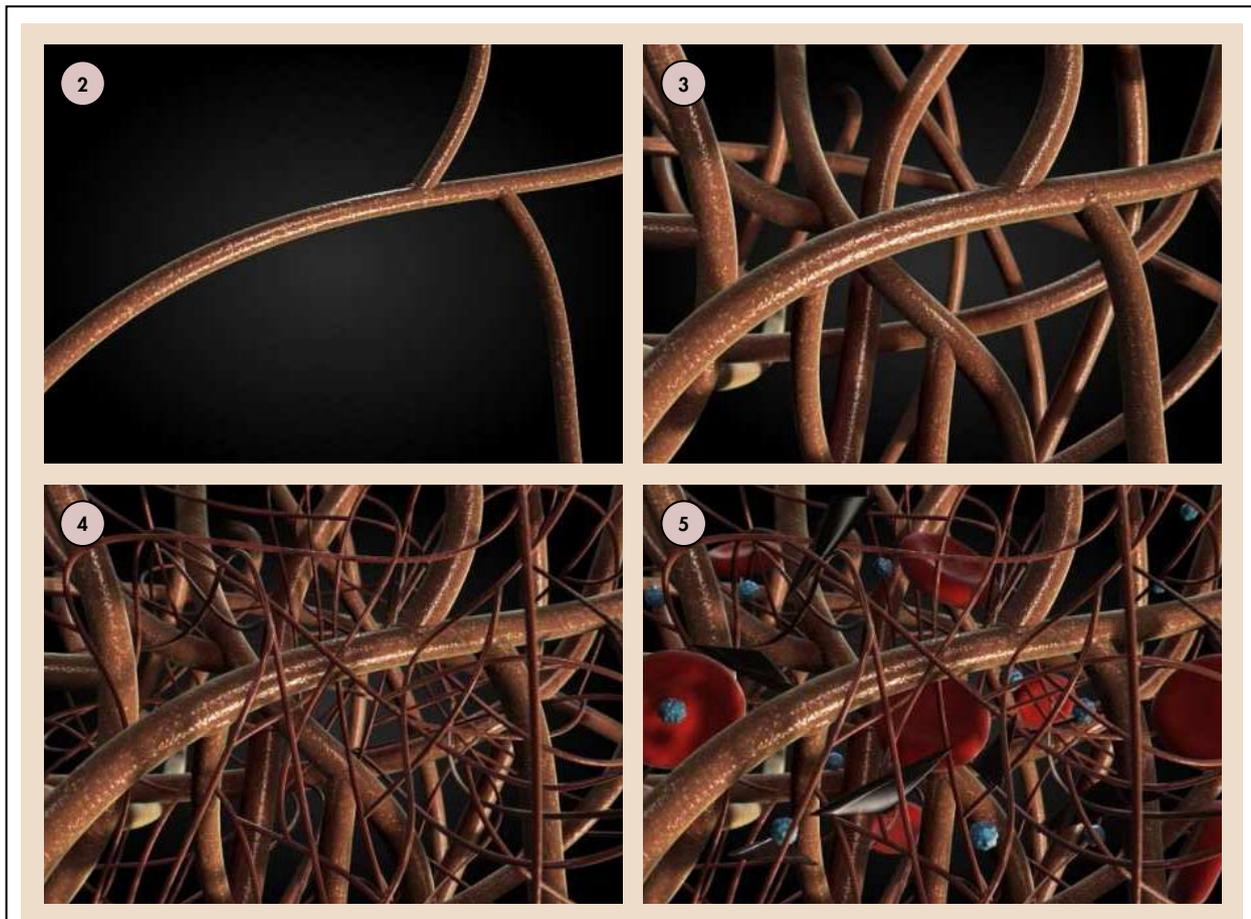


Fig. 2-5 CGF: questa sequenza mostra come la molecola di buffy coat del CGF si strutturi spazialmente in maniera estremamente regolare consentendo l'incastarsi di molecole anticorpali, cellule bianche, rosse, staminali e piastrine



Fig. 6 Prelievo venoso eseguito mediante la sistematica sterile Vacuette

MATERIALI E METODI

Per la realizzazione del CGF si inizia eseguendo un prelievo di sangue venoso usando un ago Butterfly Vacuette di 21 x 3/4 Gauge e delle provette sottovuoto Vacuette 9 ml Z Serum Clot Activator (Greiner bio. one, Austria, Fig. 6).

Una volta riempite, le provette vengono messe rapidamente e senza sbatterle, nell'apposito rotore dell'acceleratore centrifugo Medifuge (Silfradent, Italia, Fig. 7) che possiede caratteristiche esclusive per quanto riguarda:

- le caratteristiche strutturali e meccaniche, come ad esempio il rotore monolitico sterilizzabile (Fig. 8)
- l'inclinazione calibrata delle provette (Fig. 9)
- la temperatura di lavoro
- la disinfezione della camera di rotazione
- le caratteristiche dinamiche
- l'impostazione dello spunto, dell'accelerazione, della velocità e del freno da imprimere al fluido da centrifugare
- la disinfezione automatica a coperchio chiuso

Tutto questo consente di ottenere, già nella provetta, dei componenti maggiormente differenziati.



Fig. 7 Separatore di fasi ematiche Medifuge (Silfradent Italy). Questo apparecchio è settato per assicurare il controllo delle velocità e delle accelerazioni adeguate alla separazione delle fasi ematiche senza danneggiarne i componenti

- dopo circa 13 minuti di rotazione, in un apposito set sterile (Fig. 10), il siero viene separato dalle restanti fasi di CGF e conservato.
- la fase fibrinica viene separata e conservata in soluzione antibiotica diluita (Lincocin 600 mg)
- la porzione iniziale del coagulo, contenente i GF e la cellule staminali vengono immediatamente conservate nell'apposito contenitore,
- il coagulo, ricco di globuli rossi e di piastrine oltre che di ferro, calcio ed altri componenti fondamentali, viene preparato per essere utilizzato per la realizzazione di impasti da riempimento, per miscele di biomateriali o di osso autologo prelevato per osteotomia (Fig. 11).

Il blocco di fibrina invece, separato dalla fase rossa, viene preparato per essere trasformato a seconda delle necessità in un innesto cavitario diretto, in una membrana sagomata da un'apposita pinza (Figg. 12-13) o in particolato da innesto miscelato a biomateriale e osso autologo vivo (Fig. 14).

- Nel caso in cui si voglia realizzare un innesto autologo di CGF per grosse cavità si esegue una preparazione specifica, che illustriamo di seguito.

Il blocco di fibrina viene tagliato in particole di circa 1-2 mm mentre il coagulo viene frammentato e miscelato



Fig. 8 Immagine del rotore monolitico di Medifuge. Questo componente essendo facilmente smontabile, ne consente la sterilizzazione



Fig. 9 Medifuge con le provette inserite negli appositi fori



Fig. 10 Set di dappen sterili che consentono la separazione e lo stoccaggio delle fasi sanguigne separate con Medifuge



Fig. 11 Separazione del coagulo dal blocco di fibrina. Questa porzione viene depositata in un dappen sterile chiuso per evitare l'eccessiva ossidazione dell'emoglobina, dei globuli rossi e l'eccessiva disgregazione delle piastrine

al particolato di fibrina e amalgamato con il sangue fresco all'ulteriore materiale da innesto di cui l'osso autologo è la massima espressione. Per aumentare la pastosità dell'impasto, si aggiunge una quota di siero. Il tutto viene miscelato e omogeneizzato meccanicamente nell'apposito dispositivo Round Up (Silfradent, Italia) per circa 6 secondi (Fig. 15).

Questo preparato, che risulta come un impasto denso e particolarmente adesivo, viene inserito nelle cavità o nei difetti ossei ed esprime una elevatissima capacità di modellazione che ne consente la plasmatura.

Il tutto viene ricoperto con membrane di CGF realizzate strizzando i blocchi di fibrina con l'apposita pinza. Per coprire le ferite o le zone ricostruite si utilizzano le membrane di CGF che, essendo molto adesive, si possono incollare tra di loro e grazie alla loro elasticità si possono anche suturare.

Altra caratteristica delle membrane di CGF è che possono essere lasciate esposte senza il rischio di infettarsi.

Un'ulteriore procedura che eseguiamo a fine terapia è la pennellatura del siero sulla ferita.

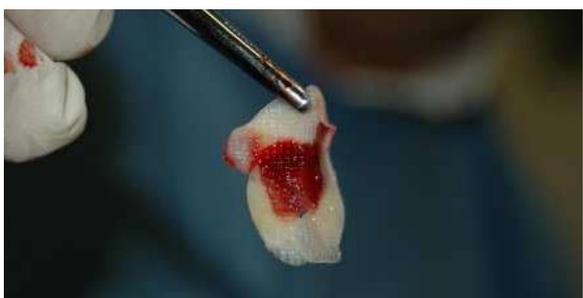


Fig. 12 Immagine della membrana che si può realizzare comprimendo un blocco di fibrina con l'apposita pinza formatrice



Fig. 14 Immagine di particolato di fibrina miscelato con materiale da innesto. L'amalgamazione di questo composto avviene in Round up in solo 6 secondi

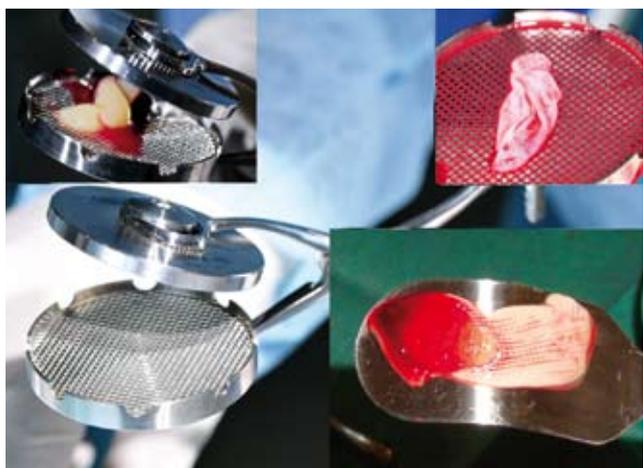


Fig. 13 Immagine di una membrana stampata con la pinza formatrice e posizionata sull'apposita spatola che ne consente il corretto e semplificato posizionamento



Fig. 15 Round Up

CASE REPORT 1



Figg. 16, 16 bis Immagine radiologica dell'elemento 21 in cui si osserva una lesione apicale erosiva in elevato stato di avanzamento



Fig. 17 Immagine vestibolare in cui si osserva la mucosa infiammata e la cicatrice fistolosa a livello apicale



Fig. 18 Periotomia eseguita con una lama di bisturi 11 e con sindesmotomo diritto per evitare sofferenze ossee durante l'estrazione

Il paziente P.G. di 36 aa e di sesso m, presentava una tumefazione nella zona corrispondente all'elemento 21 e riferiva una ricorrente fuoriuscita di materiale fistoloso (Fig.16).

Verificato lo stato di salute ottimale del paziente e l'importanza della lesione, decidiamo di effettuare l'estrazione dell'elemento e contemporaneamente l'inserimento di una radice protesica a ROP (TMI Pressing RSM) unitamente all'osteoneogenesi della zona interessata.

Iniziamo l'intervento eseguendo un prelievo di sangue venoso di otto provette (Vacuette) dall'avambraccio del paziente e la loro centrifugazione con Medifuge (Silfradent, Italia) secondo il protocollo CGF. Dopo l'anestesia plessica, l'estrazione viene eseguita con estrema attenzione per non fratturare le corticali residue (fig. 18).



Fig. 19 Estrazione eseguita, controllo dell'apice dentale e pulizia e disinfezione dell'alveolo post-strattivo



Fig. 20 Osservazione del lembo mucoperiosteico a tutto spessore che evidenzia una ampia lesione ossea a carico della corticale vestibolare. Questa porzione sarà oggetto di rigenerazione ossea



Fig. 21 Sondaggio apicale di almeno 2 mm per assicurare una adeguata stabilità primaria alla futura radice protesica



Fig. 22 Applicazione della protesi radicolare post-estrattiva. Questo tipo di radice protesica consente un eccellente ancoraggio oltre che una forma particolarmente adatta a queste procedure. Nonostante la parete vestibolare sia mancante, il diametro dell'impianto deve essere il più congruente possibile a quello della cavità

A questo punto si inserisce una radice protesica a ROP appositamente progettata per gli impianti post estratti di da 4,7 x 15 mm (TMI, Pressing RSM, Fig. 22).

Lo spazio residuo tra protesi radicolare e osso alveolare viene riempito utilizzando una miscela fatta dal particolato di fibrina miscelato con osso autologo, recuperato con l'osteotomia, e con la parte iniziale del coagulo (Fig. 23).

La breccia ossea è stata quindi ricoperta con delle membrane di fibrina incrociate come si volesse costruire un tessuto a strati successivi.

Questa procedura consente la protezione e la stimolazione della ferita in quanto non solo isolano l'innesto dall'esterno, ma ne potenziano l'azione riparativa sfruttando le capacità ottiche della fibrina per trasmettere i segnali riparativi che vengono espressi dal periostio e dai fattori di crescita circostanti.

Ultimata la chirurgia si incolla, mediante composito, la corona dell'elemento in questione per motivi puramente estetici (Fig. 24).

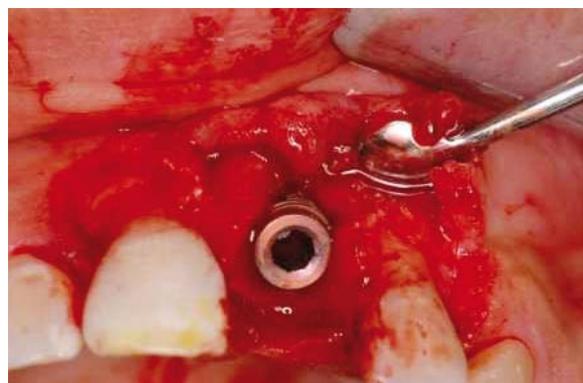


Fig. 23 Applicazione dell'innesto composto da particolato di buffy coat, GF e staminali miscelate a osso autologo e parte del coagulo con l'apposito amalgamatore Round Up



Fig. 24 Applicazione incrociata delle membrane di fibrina. Questa tecnica favorisce la perfetta copertura e protezione dell'innesto



Fig. 25 Controllo dell'adattamento delle membrane verificandone il perfetto accollamento al tessuto osseo nativo



Fig. 26 Immagine della sutura applicata che, nonostante fosse presente la breccia dell'estrazione, chiude perfettamente la ferita



Fig. 27 Incollaggio con composito della corona dentale per motivi estetici

Il paziente viene quindi sottoposto a Terapia Magnetico Elettrica, sia professionale con Campi Magnetici Combinati con 6 sedute ogni 3 gg, che domiciliari con TME per 45 gg (MFI, Italia). Vengono eseguite le radiografie di controllo a 15, 30 e 45 gg (Fig. 28).

Dopo 60 gg la rigenerazione ossea è completata ed il paziente è pronto per essere sottoposto alla terapia protesica coronale (Fig. 29).



Fig. 28 Rx di controllo a 45 gg in cui si osserva che la densità ossea è uniforme sia nella zona dell'innesto che in quella nativa



Fig. 29 Immagine della ottimale rigenerazione avvenuta anche a livello mucoso. Siamo infatti pronti alla registrazione delle impronte per la realizzazione della corona protesica

CASE REPORT 2



Fig. 30 Radiografia iniziale



Fig. 31 Scollamento



Fig. 32 Scollamento



Fig. 33 Scollamento



Fig. 34 Canino incluso



Fig. 35 Estrazione incluso



Fig. 36 Canino estratto, breccia chirurgica

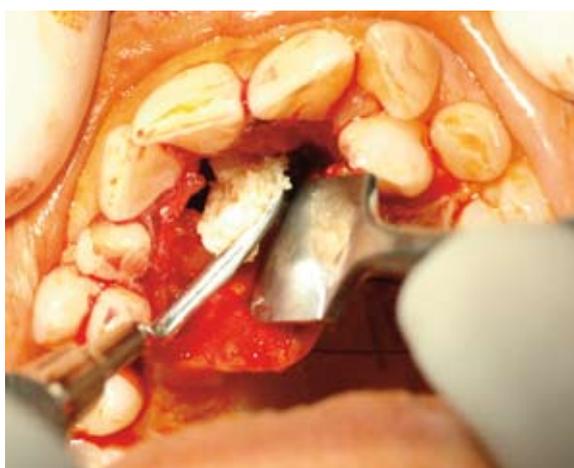


Fig. 38 Riempimento cavità con Combioss

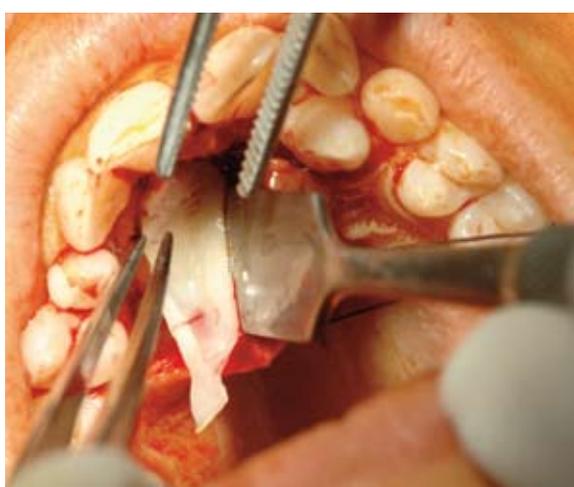


Fig. 40 Riempimento alveolo con membrana di CGF



Fig. 37 Blocco di Fibrina



Fig. 39 Riempimento alveolo con Combioss e CGF



Fig. 41 Riempimento alveolo con membrana di CGF



Fig. 42 Canino richiuso, spennellata di siero sulla ferita



Fig. 43 Canino richiuso, spennellata di siero sulla ferita



Fig. 44 Caso 3 gg dopo l'operazione



Fig. 45 Qualità del tessuto al 3° gg

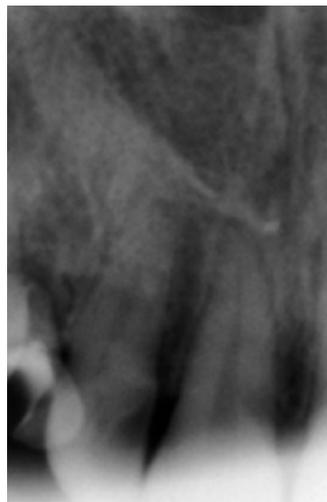


Fig. 46 Rx di controllo a 45 gg

RISULTATI

In tutti i casi in cui è stata applicata la tecnologia CGF si è ottenuto un elevato incremento delle prestazioni rigenerative sia ossee che dei tessuti molli, in un tempo praticamente dimezzato.

Le ferite hanno dimostrato una grande resistenza alle infezioni diminuendo il rischio di contaminazione batterica post-operatoria.

L'uso del CGF in membrana inoltre consente un eccellente effetto barriera, semplicemente adattabile, molto adesivo e suturabile. Questo favorisce notevolmente le procedure operatorie.

Inoltre il CGF si è comportato come un potente antidolorifico ed antinfiammatorio.

Altra caratteristica tipica della terapia con CGF è il colore roseo che assumono i tessuti molli già nelle prime giornate.

CONCLUSIONI

Il sistema CGF offre la possibilità di avere a disposizione:

- un sistema realizzato dal mix individuale dei blocchi di fibrina gelificata a bassa concentrazione di GF

- coaguli attivati ad alta concentrazione di GF contenuti nelle piastrine che si disgregano durante la manifattura
- siero, che offre componenti proteici ed immunitari diluiti

Queste fasi, applicate sui tessuti da ricostruire o rigenerare, ne accelerano notevolmente i processi di riparazione.

Quando il CGF viene associato ad osso autologo vivo e sangue fresco si crea il presupposto ottimale per l'osteoneomorfogenesi.

Per questo il CGF si presenta come una moderna alternativa alle tecniche di preparazione e di trasformazione del sangue senza addizione di componenti catalizzatori o di sintesi. Le grandi capacità stimolanti e riparative dei GF concentrati contenuti e veicolati dal CGF consentono grandi possibilità riparative per i tessuti sottoposti a ricostruzione.

Questo lavoro scientifico è corredato da 257 voci bibliografiche, così come indicato nel testo. Per una loro consultazione rivolgersi a info@silfradent.com