

SIdP

**Società Italiana
di Parodontologia
e Implantologia**

Chirurgia ossea resettiva con tecnica tradizionale vs conservazione delle fibre: analisi clinica, istologica e biomolecolare a 12 mesi

**Giulia Maria Mariani, Elena Ercoli, Martina Audagna,
Antonio Graziano, Federica Romano, Mario Aimetti**

*Dipartimento di Scienze Chirurgiche, C.I.R. Dental School,
Università di Torino, Torino*

SIdP - Atti della Sessione di ricerca Premio H.M. Goldman - Rimini, 14 marzo 2014

RIASSUNTO

Obiettivi: In letteratura è presente un solo studio clinico prospettico che confronta la chirurgia ossea resettiva con conservazione delle fibre (FibReORS) e tradizionale (ORS). Obiettivo di questo studio split-mouth è stato confrontare le due tecniche da un punto di vista clinico, istologico e biomolecolare. **Materiali e Metodi:** Sono stati selezionati 13 pazienti con parodontite cronica e trattati 26 sestanti posteriori di cui 13 con FibReORS (gruppo test) e 13 con ORS (gruppo controllo). Le misurazioni cliniche sono state effettuate al baseline, 3, 6 e 12 mesi e l'analisi radiografica al baseline, nel post-operatorio, a 6 e 12 mesi. L'analisi istologica e biomolecolare è stata eseguita su campioni di tessuto epitelio-connettivale prelevati intraoperatoriamente e alla rimozione sutura. **Risultati:** La tecnica FibReORS ha determinato minor recessione, ostectomia e riassorbimento osseo radiografico associati ad un minor disagio post-operatorio ($p < 0.001$). I risultati istologici e biomolecolari hanno, rispettivamente, evidenziato più rapida riorganizzazione epitelio-connettivale, minor infiltrato infiammatorio e ridotta espressione di CD 14 e TRAP nel gruppo test rispetto a quello di controllo. **Conclusioni:** La tecnica FibReORS è più efficace clinicamente e comporta minor disagio post-operatorio, minor infiammazione, moderata attivazione monocito-osteoclastica e più rapida riorganizzazione epitelio-connettivale.

INTRODUZIONE

La parodontite induce, con la perdita di livello di attacco clinico, una quota di riassorbimento osseo.¹ In presenza di difetti intraossei si determina un'architettura inversa in cui i livelli ossei interprossimali sono in posizione più apicale rispetto all'osso radicolare vestibolare e linguale/palatino. Dopo terapia non chirurgica possono residuare sondaggi maggiori di 5 mm con persistente sanguinamento.²⁻⁴ Numerosi studi hanno sottolineato la loro rilevanza come fattore predittivo positivo per la progressione della malattia durante la terapia di mantenimento.⁵⁻⁷ Un recente studio retrospettivo su un ampio campione ha evidenziato che siti con profondità di sondaggio > 4 mm, dopo terapia attiva, rappresentano un fattore di rischio per la progressione della malattia e la perdita di denti durante la terapia di supporto, suggerendo che il trattamento chirurgico delle tasche residue è fortemente raccomandato.⁸ Un lembo posizionato apicalmente associato a chirurgia ossea reset-

tiva (ORS) è una possibilità terapeutica per eliminare tasche residue associate a difetti intraossei nei settori posteriori.⁹

La tecnica ORS tradizionale¹⁰ prevede la correzione di difetti intraossei ≤ 3 mm ed il ripristino di un'architettura fisiologica della cresta ossea⁹.

La tecnica di conservazione delle fibre (FibReORS), proposta da Carnevale¹¹, trova il suo presupposto biologico in uno studio istologico degli anni '70 in cui si evidenziava minore perdita di attacco nei casi in cui venivano preservate le fibre sovracrestali adese al cemento radicolare¹². Considerando le fibre come fondo del difetto si riduceva l'entità di osteotomia necessaria per eliminare i difetti.³ Uno studio retrospettivo ha messo in evidenza che i pazienti trattati con FibReORS hanno un moderato rischio di recidiva e perdita degli elementi dentari in un periodo medio di 8 anni.³ In considerazione della presenza in letteratura di un unico lavoro prospettico¹³ l'obiettivo di questa ricerca è stato mettere a confronto queste due tecniche, da un punto di vista clinico e radiografico, con un trial randomizzato e split-mouth. Inoltre, si è voluto analizzare, da un punto di vista istologico, il grado di maturazione post-chirurgico dei tessuti e, da un punto di vista biomolecolare, il grado d'infiammazione e di attivazione della linea osteoclastica.

MATERIALI E METODI

Selezione dei pazienti

Da giugno a dicembre 2011 sono stati selezionati in modo consecutivo pazienti che, al termine della terapia eziologica eseguita presso il Servizio di Parodontologia, C.I.R. Dental School Università di Torino, presentavano indicazione a terapia chirurgica ossea resettiva. Lo studio è stato condotto secondo i principi della Dichiarazione di Helsinki¹⁴ ed approvato dal Comitato Etico. I pazienti arruolati hanno firmato il consenso informato.

Criteri d'inclusione

- Età ≥ 18 anni
- Parodontite cronica generalizzata secondo i criteri di Armitage¹⁵
- Non fumatori
- Full Mouth Plaque Score (FMPS) e Full Mouth Bleeding Score (FMBS) $< 20\%$
- Presenza di almeno due sestanti posteriori con denti naturali ed almeno un sito con profondità di sondaggio (PD) ≥ 5 mm e sanguinamento al sondaggio
- Difetti intraossei ≤ 3 mm

Criteri di esclusione

Le seguenti condizioni hanno determinato l'esclusione dallo studio:

- malattie sistemiche controindicanti una terapia chirurgica
- corone protesiche o elementi dentali con giunzione smalto-cemento (CEJ) non identificabile
- mobilità $2^{16} > \text{grado}$
- coinvolgimento delle biforcazioni di grado 2 o 3¹⁷

Dimensione campionaria e randomizzazione

È stata calcolata la numerosità campionaria considerando una probabilità dell'errore di prima specie $\alpha=0.05$, una potenza $(1-\beta)=0.80$ ed una variabilità (σ) di 0.8, in base a quanto riportato da Cairo et al.¹³ circa la variazione di PD a 12 mesi. Per rilevare differenze di 0.8 ± 0.8 mm il numero di pazienti da includere nello studio era 10. Tuttavia, tenendo conto di una percentuale di drop out del 20%, si è ritenuto opportuno includerne almeno 12 per un totale di 12 sestanti da trattare con ciascuna tecnica chirurgica.

Al momento dell'arruolamento è stato assegnato ad ogni paziente un numero consecutivo e si è provveduto alla randomizzazione della tecnica chirurgica. Un sestante è stato randomizzato al gruppo test (trattato con tecnica FibReORS) e l'altro al gruppo di controllo (tecnica ORS). Il risul-

tato della randomizzazione è stato inserito in una busta opaca e sigillata che riportava il numero progressivo del paziente e il codice del sestante. La busta è stata aperta immediatamente dopo l'elevazione del lembo e la procedura da eseguire comunicata all'operatore. Le liste di randomizzazione sono state aperte dallo statistico al termine dello studio.

Parametri clinici

Al baseline, a 3, 6 e 12 mesi dalla chirurgia sono stati registrati i parametri clinici da un unico parodontologo esperto, preventivamente calibrato, non coinvolto nella fase chirurgica. La calibrazione è stata effettuata mediante registrazione di PD e livello di attacco clinico (CAL) su 5 pazienti selezionati casualmente tra quelli seguiti presso il Servizio di Parodontologia. I parametri clinici sono stati nuovamente rilevati a distanza di 2 ore e confrontati con quelli registrati dal Responsabile dello studio. La concordanza, valutata col test kappa, era compresa tra 89% e 94%.

I seguenti parametri sono stati rilevati mediante sonda graduata (PCP15/11.5, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA) su 6 siti per ogni dente presente nei sestanti sottoposti a trattamento:

- presenza/assenza di placca (PI) e di sanguinamento al sondaggio (BoP)
- profondità di sondaggio (PD)
- recessione (REC)
- livello di attacco clinico (CAL)
- banda di tessuto cheratinizzato (KT)

Sono stati, inoltre, rilevati mobilità e coinvolgimento delle biforcazioni.

Parametri radiografici

L'esame radiografico è stato eseguito al baseline, nel post-operatorio, a 6 e 12 mesi dall'intervento. Prima dell'intervento per ogni paziente è stata rilevata un'impronta in alginato per l'allestimento di una mascherina termostampata in resina all'interno della quale sono state fissate, in corrispondenza degli elementi da trattare, quattro sfere metalliche del diametro di 1 mm con resina autopolimerizzante. La mascherina è stata utilizzata durante l'esecuzione delle radiografie periapicali con tecnica del parallelismo, centratori di Rinn e sensore digitale ai fosfori (Digora®, modello Optime 2009, Soredex).

L'analisi radiografica è stata effettuata, in cieco, da un ingegnere del Politecnico di Torino, coadiuvato da un odontoiatra. Sulla base di quanto riportato da Schei et al.¹⁸ e Bjorn et al.¹⁹ sono stati identificati sulle radiografie, proiettate su uno schermo da 21" full HD, dopo avere minimizzato le distorsioni dimensionali, i seguenti punti di repere:

- CEJ
- Cresta ossea (BC), individuata come la posizione più coronale della cresta alveolare adiacente al difetto.
- Fondo del difetto (DB)

Le misurazioni sono state eseguite col software Image J, fornito dal Politecnico di Torino, un programma di elaborazione digitale delle immagini, basato su Sun-Java, sviluppato dal National Institute of Health degli Stati Uniti. Esso possiede un editor di plugin incorporato ed un compilatore Java che rendono possibile la gestione di problemi di processamento ed analisi delle immagini. Sono state misurate le distanze CEJ-BC e BC-DB a livello interprossimale di tutti gli elementi dentali dei sestanti trattati.

Analisi istologiche e biomolecolari

Durante l'intervento chirurgico sono stati prelevati un campione di tessuto epitelio-connettivale a livello di una papilla interprossimale nell'area dell'intervento e un campione, come controllo, dall'area retro-molare. Al momento della rimozione della sutura, è stato prelevato un secondo campione dalla stessa area interprossimale. I campioni, immersi in fisiologica, sono stati inviati entro 24 ore al Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Istologia, Seconda Università

di Napoli per le analisi di laboratorio in cieco.

Analisi istologica: I campioni sono stati fissati in PFA al 4%, inclusi in tissue tek e sezionati a 4 μ . Alcune sezioni sono state conservate per le analisi molecolari ed alcune colorate con ematossilina ed eosina. Le immagini sono state acquisite mediante fotocamera digitale Nikon montata su microscopio diritto Olympus.

Analisi immunofluorescenza (IF) per CD14: Le sezioni sono state lavate con PBS, incubate con 5% di BSA per 60 minuti e trattate con anticorpo anti-CD14 FITC (diluito 1:100 in PBS) (Becton Dickinson) overnight a +4°C. Dopo incubazione, le sezioni sono state lavate con PBS, incubate con Hoechst33342 per 7 minuti e le immagini acquisite con microscopio a fluorescenza Olympus mediante fotocamera digitale Nikon.

Analisi immunostochimica per IFN- γ , TNF- α , IL1- α , CXCL5: Le sezioni sono state colorate utilizzando il kit per immunostochimica (AbCAM). Gli anticorpi primari rabbit anti-human IFN- γ , mouse anti-human TNF- α , mouse anti-human IL-1 α , e mouse anti-human CXCL5 sono stati incubati overnight a +4°C. Dopo la colorazione, le sezioni sono state incubate con ematossilina per 30 secondi, lavate, montate e le immagini acquisite come precedentemente descritto.

Analisi citometrica per TRAP: i campioni non fissati sono stati sottoposti a digestione enzimatica mediante collagenasi/dispasi per 1 ora a temperatura ambiente. Dopo digestione sono stati filtrati e colorati col kit Fix&Perm per la marcatura intracitoplasmatica (Invitrogen). L'anticorpo mouse anti-human TRAP (AbCAM) è stato incubato per 30 minuti. Dopo lavaggio con PBS, i campioni sono stati incubati con anticorpo secondario FITC o PE (AbCAM) ed esaminati mediante citofluorimetro a flusso FACSaria II (BD-CA, USA).

Procedura chirurgica e misure intraoperatorie

Gli interventi sono stati eseguiti da un unico operatore. Sul versante vestibolare sono stati effettuati un'incisione paramarginale o intrasulculare, in base alla quantità di KT, ed uno scollamento del lembo a spessore parziale o misto. Dal lato palatino sono stati eseguiti un'incisione paramarginale ed un lembo palatino assottigliato. Dal lato linguale, l'incisione è stata effettuata a livello paramarginale o sulculare, a seconda della quantità di KT, e seguita da uno scollamento a tutto spessore fino ad esporre i difetti ossei. In base alla randomizzazione è stata eseguita la tecnica ORS¹⁰ (Fig. 1) oppure FibReORS¹¹ (Fig. 2).



Figura 1. a-b. Immagine della cresta ossea prima e dopo rimodellamento. c-d. Immagine clinica prima della chirurgia (c) con tecnica ORS ed a distanza di 12 mesi (d). e-f. Radiografia preoperatoria ed a 12 mesi.



Figura 2. a-b. Immagine della cresta ossea prima e dopo rimodellamento. c-d. Immagine clinica prima della chirurgia (c) con tecnica FibReORS ed a distanza di 12 mesi (d). e-f. Radiografia preoperatoria ed a 12 mesi.

Prima e dopo il rimodellamento osseo sono state rilevate le seguenti misure su 6 siti per dente:

- CEJ - BC₀: distanza tra CEJ e BC prima del rimodellamento
- BC₀ - DB: distanza tra BC e DB prima del rimodellamento
- BC₀ - AF: distanza tra BC ed il livello di attacco delle fibre connettivali prima del rimodellamento
- CEJ - BC₁: distanza tra CEJ e BC dopo rimodellamento
- BC₁ - DB: distanza tra BC e DB dopo rimodellamento

Il lembo è stato posizionato a livello della cresta ossea e suturato con sutura a materasso verticale esterno ancorata al periostio. Dopo la sutura, l'operatore incaricato della registrazione delle misure, in cieco rispetto alla tecnica chirurgica, ha rilevato su 6 siti per dente la REC ed il KT residuo.

Follow-up post-chirurgico e questionario per il paziente

Ai pazienti è stato prescritto Ketoprofene 80 mg da assumere dopo l'intervento, a distanza di 6 e 12 ore ed, a seguire, al bisogno. Sono stati prescritti sciacqui di clorexidina 0.12% per 1 minuto tre volte al giorno per il controllo chimico della placca, fino alla rimozione della sutura a 10 giorni. I pazienti sono stati controllati a 7, 10, 15 (quando hanno ripreso le manovre di spazzolamento) e 30 giorni durante i quali è stato eseguito polishing dei sestanti trattati. A 7, 15 e 30 giorni è stato anche valutato il dolore post-operatorio mediante scala VAS (0-10). Dopo il primo mese di guarigione sono stati inseriti in una terapia di supporto con richiami trimestrali.

Analisi statistica

I dati sono stati espressi come media \pm deviazione standard o distribuzione di frequenza. Per ogni paziente è stato selezionato un sito sperimentale che corrispondeva a quello con più elevata PD e presenza di BoP al baseline. È stata effettuata un'analisi statistica per sestante e per sito sperimentale.

I dati clinici rilevati al baseline nei due gruppi di trattamento sono stati confrontati mediante test T-Student per campioni appaiati per i parametri con distribuzione normale, test di Wilcoxon per quelli con distribuzione non gaussiana e test del chi-quadrato per le variabili dicotomiche.

L'efficacia clinica e radiografica delle tecniche ORS e FibReORS nei 12 mesi dello studio è stata

valutata mediante ANOVA e test di Friedman. Mediante test post hoc (test di Newman-Keuls e test di Dunn) è stata analizzata la significatività delle variazioni tra il baseline ed i vari follow-up nel caso in cui l'ANOVA o il test di Friedman fossero statisticamente significativi. Il confronto tra i parametri rilevati nei due gruppi di trattamento è stato effettuato mediante test T-Student per campioni appaiati e test di Wilcoxon con correzione di Bonferroni. È stato considerato statisticamente significativo un p-value < 0.05. I dati sono stati analizzati mediante software statistico SAS.

RISULTATI

Dei 25 pazienti considerati per essere inseriti nello studio, 10 non rientravano nei criteri di inclusione e 2 hanno rifiutato il trattamento per motivi di lavoro. Sono, quindi, stati inclusi 13 pazienti, di cui 3 uomini e 10 donne di età media 48.4 ± 4.7 anni. Sono stati trattati 26 sestanti, di cui 13 mascellari e 13 mandibolari. Con la tecnica di preservazione delle fibre sono stati trattati 6 sestanti mascellari e 7 mandibolari, mentre con quella tradizionale 7 mascellari e 6 mandibolari. Le procedure chirurgiche sono state eseguite tra gennaio ed ottobre 2012. Non si sono verificati drop out durante i 12 mesi dello studio.

Nelle Tabelle 1 e 2 sono riassunti i parametri clinici e radiografici rilevati nei due gruppi di trattamento. Al baseline non vi erano differenze statisticamente significative per nessuno dei parametri analizzati ($p > 0.05$).

Tabella 1. Analisi clinica: dati per sestante e per sito sperimentale

	FibReORS (n=13)		ORS (n=13)		p-value <i>FibReORS vs ORS</i>
	<i>Sestante</i>	<i>Sito sperimentale</i>	<i>Sestante</i>	<i>Sito sperimentale</i>	
PD (mm)					
<i>baseline</i>	3.6 ± 0.6	5.9 ± 1.2	3.4 ± 0.6	5.5 ± 0.7	ns
<i>3 mesi</i>	1.7 ± 0.3	2.0 ± 0.7	1.5 ± 0.2	1.9 ± 0.6	ns
<i>6 mesi</i>	2.2 ± 0.3	2.7 ± 0.5	2.1 ± 0.3	2.5 ± 0.5	ns
<i>12 mesi</i>	2.1 ± 0.4	2.9 ± 0.4	2.2 ± 0.5	2.9 ± 0.6	ns
REC (mm)					
<i>baseline</i>	0.2 ± 0.5	0.6 ± 0.8	0.3 ± 0.5	0.4 ± 0.7	ns
<i>postoperatorio</i>	4.5 ± 1.0	7.5 ± 1.1	5.1 ± 0.9	7.9 ± 1.1	ns
<i>3 mesi</i>	3.3 ± 1.1	5.2 ± 1.0	3.9 ± 1.1	5.9 ± 1.2	ns
<i>6 mesi</i>	3.0 ± 0.8	4.3 ± 1.1	3.8 ± 1.0	5.3 ± 1.0	<0.01
<i>12 mesi</i>	2.8 ± 0.7	4.0 ± 1.1	3.7 ± 1.0	5.1 ± 1.0	<0.01
CAL (mm)					
<i>baseline</i>	3.8 ± 1.0	6.5 ± 1.2	3.7 ± 0.8	5.9 ± 0.9	ns
<i>3 mesi</i>	5.0 ± 1.1	7.2 ± 1.1	5.4 ± 1.2	7.8 ± 1.2	ns
<i>6 mesi</i>	5.2 ± 0.9	7.0 ± 1.1	5.9 ± 1.1	7.8 ± 1.1	ns
<i>12 mesi</i>	4.9 ± 0.8	6.9 ± 1.0	5.9 ± 1.0	8.0 ± 1.1	<0.01
KT (mm)					
<i>baseline</i>		3.3 ± 0.5		3.4 ± 0.6	ns
<i>postoperatorio</i>		2.5 ± 0.4		2.6 ± 0.5	ns
<i>12 mesi</i>		3.3 ± 0.5		3.5 ± 0.5	ns
Ostectomia (mm)	0.4 ± 0.2	0.5 ± 0.7	1.0 ± 0.3	1.9 ± 0.8	<0.001

Durante il corso dello studio i pazienti hanno mantenuto valori di FMPS e FMBS < 20%. Entrambe le tecniche chirurgiche hanno determinato una variazione statisticamente significativa di PD, REC e CAL tra il baseline ed i 12 mesi di follow-up ($p < 0.001$). Come si evidenzia dalla Tabella 1, le variazioni si sono verificate nei primi 6 mesi dopo il completamento della fase chirurgica ($p < 0.0001$), mentre negli ultimi 6 mesi i parametri sono rimasti quasi invariati ($p > 0.05$). Un trend sovrapponibile è emerso dall'analisi dei dati clinici rilevati a livello dei siti sperimentali.

A livello dei sestanti trattati mediante FibReORS è stata eseguita un'ostectomia media di 0.4 ± 0.2 mm. Il PD medio è andato incontro ad una riduzione statisticamente significativa da 3.6 ± 0.6 mm al baseline a 2.1 ± 0.4 mm a 12 mesi ($p < 0.001$). Questo cambiamento si è accompagnato ad un aumento dell'entità di REC da 0.2 ± 0.5 mm a 2.8 ± 0.7 mm ($p < 0.0001$) con valori di CAL da 3.8 ± 1.0 mm a 4.9 ± 0.8 mm ($p < 0.001$).

A livello dei sestanti trattati mediante ORS l'ostectomia eseguita è stata, in media, pari a 1.0 ± 0.3 mm. Durante i 12 mesi dello studio si è rilevata una variazione media di PD da valori iniziali di 3.4 ± 0.6 mm a valori finali di 2.2 ± 0.5 mm ($p < 0.001$). La REC media è aumentata da 0.3 ± 0.5 mm a 3.7 ± 1.0 mm con valori di CAL da 3.7 ± 0.8 mm a 5.9 ± 1.0 mm ($p < 0.0001$).

La tecnica di preservazione delle fibre ha determinato, in modo statisticamente significativo, una minore entità di ostectomia, un minor spostamento apicale del margine gengivale libero, ma una sovrapponibile riduzione media di PD a 12 mesi. Non vi erano differenze, inoltre, nel KT.

Risultati sovrapponibili sono emersi dall'analisi dei medesimi parametri a livello dei siti sperimentali. Nel gruppo test la PD media è andata incontro nel corso dei 12 mesi dello studio ad una riduzione media di 3.0 ± 1.2 mm e la REC ad un aumento medio di 3.4 ± 1.1 mm. Nel gruppo controllo si sono osservati una riduzione media di PD di 2.6 ± 0.5 mm ed un aumento medio di REC di 4.7 ± 0.9 mm. Le differenze tra i due gruppi erano statisticamente significative per la variazione di REC e per la quantità di ostectomia eseguita con una differenza di 1.4 ± 1.0 mm a favore del gruppo test ($p < 0.0001$).

Per quanto concerne i dati radiografici (Tabella 2), è emersa una differenza statisticamente significativa tra gruppi test e controllo nell'entità di ostectomia e riassorbimento osseo ($p < 0.001$). La prima, corrispondente alla differenza tra i valori di CEJ-BC rilevati al baseline ed nel post-operatorio, era di 0.4 ± 0.1 mm nel gruppo test e di 0.9 ± 0.1 in quello di controllo. L'entità del riassorbimento osseo a 12 mesi, calcolata come differenza tra i valori di CEJ-BC rilevati nel post-operatorio ed a 12 mesi, era pari a 0.13 ± 0.1 mm per la FibReORS e di 0.43 ± 0.1 mm per la ORS.

Per quanto concerne la valutazione, su scala VAS, dell'intensità del dolore riferito dai pazienti, si è osservata una differenza statisticamente significativa tra le due tecniche nelle fasi iniziali di guarigione a favore della FibReORS ($p < 0.001$). Nel gruppo test i valori medi della VAS erano 3.2 ± 1.9 a 7 giorni e 1.2 ± 1.4 a 14 giorni. Il dolore percepito dopo tecnica tradizionale raggiungeva un'intensità circa doppia con valori di 6.8 ± 2.3 e 3.9 ± 2.1 . A distanza di 30 giorni dalle chirurgie nessun paziente riferiva più dolore.

Tabella 2. Analisi radiografica: dati per sestante

	FibReORS	ORS	p-value <i>FibReORS vs ORS</i>
Ostectomia (mm)	0.4 ± 0.1	0.9 ± 0.1	<0.001
Riassorbimento osseo (mm)			
6 mesi	0.08 ± 0.1	0.46 ± 0.1	<0.0001
12 mesi	0.13 ± 0.1	0.43 ± 0.1	<0.001

n.s.= non statisticamente significativo ($p>0.05$)

L'analisi istologica ha evidenziato un aumento dell'infiltrato infiammatorio ed uno scompaginamento dell'architettura tissutale con assenza di papille connettivali, creste epiteliali e orto-cheratinizzazione nei campioni prelevati dai siti trattati con tecnica tradizionale (Fig. 3a e 3c). Nei siti test, invece, si osservavano orto-cheratinizzazione dell'epitelio e maturazione del sottostante connettivo con formazione delle papille connettivali ed attiva riorganizzazione delle fibre (Fig. 3b

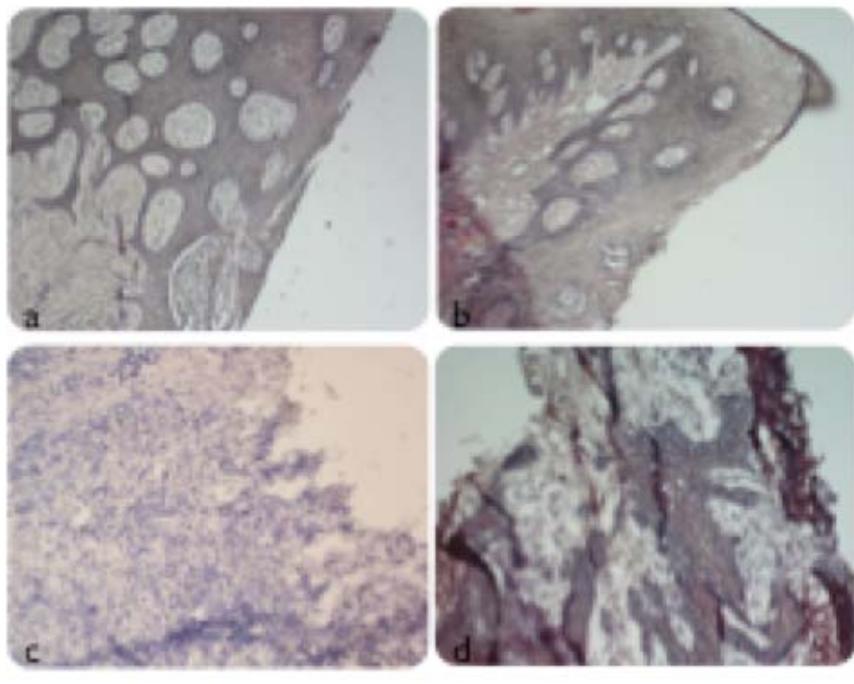


Figura 3. Immagini istologiche con colorazione ematossilina ed eosina. **a-b.** Campioni prelevati al momento della chirurgia. Si osservano un tessuto epiteliale in ortocheratosi ed un tessuto connettivale con tralci integri. **c.** Campione prelevato alla rimozione sutura (ORS): l'architettura del tessuto è irregolare con assenza di papille connettivali, creste epiteliali e cheratinizzazione dell'epitelio. È presente un intenso infiltrato infiammatorio. **d.** Campione prelevato alla rimozione sutura (FibReORS): è evidente un'iniziale ortocheratinizzazione dell'epitelio. Le papille connettivali appaiono in formazione con ristrutturazione dei tralci connettivali.

e 3d).

L'analisi con immunofluorescenza, inoltre, ha identificato un numero più elevato di cellule CD14+ appartenenti alla linea monocitaria nei campioni del gruppo di controllo rispetto a quelli del gruppo test (Fig. 4). Questi monociti, come evidenziato dall'analisi citofluorimetrica per TRAP, antigeno identificante la fosfatasi acida, andavano incontro ad un differenziamento di tipo osteoclastico. Nei campioni, invece, del gruppo test la TRAP non era aumentata.

Per quanto concerne i mediatori dell'infiammazione, erano espressi in maggiori quantità nei tessuti del gruppo controllo e, in particolare, l'isoforma alfa dell'IL-1 era secreta attivamente dagli epitelii e dai leucociti della linea monocito-macrofagica. Essa, unitamente al TNF- α , anch'esso aumentato nei controlli, induceva gli epitelio-citi a secernere CXCL5. Infine, nel gruppo controllo si è riscontrato un incremento, rispetto al gruppo test, nella secrezione di IFN- γ , una sorta di molecola anti-infiammatoria e antagonista del CXCL5.

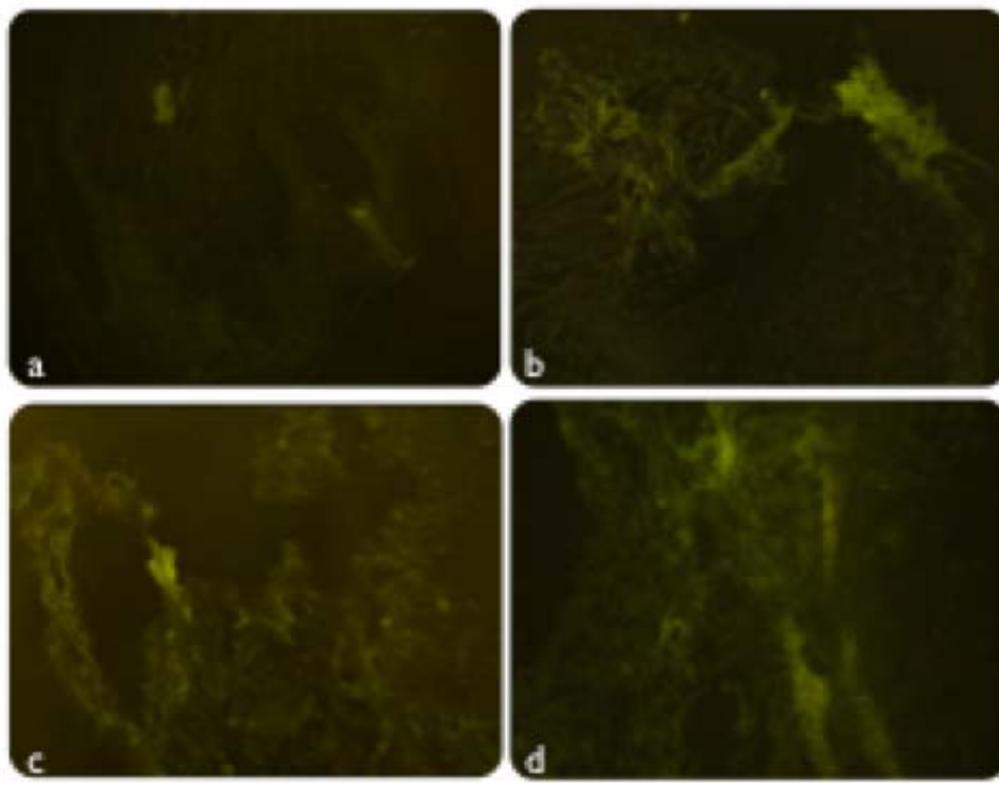


Figura 4. Immagini all'immunofluorescenza con anticorpo anti-CD14 FITC. **a-b.** Campioni prelevati al momento della chirurgia **c.** Campione prelevato alla rimozione sutura (ORS) . La mappatura della fluorescenza, nettamente positiva, evidenzia un importante infiltrato monocito-macrofagico. **d.** Campione prelevato alla rimozione sutura (FibReORS). Il segnale di fluorescenza è simile a quello rilevato al baseline (b).

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La chirurgia ossea resettiva è una procedura che si pone come obiettivo l'eliminazione delle tasche, la completa rimozione del tartaro dalle superfici radicolari e la ricreazione di una fisiologica morfologia dei tessuti duri, per mezzo della correzione dei difetti ossei, e di una corretta morfologia dei tessuti molli.²⁰⁻²³

Alcuni studi istologici dimostrano che le fibre connettivali dell'ampiezza biologica mantengono circa la stessa ampiezza in condizioni di salute e di malattia parodontale (1.07 mm nei soggetti sani e 1.06 mm nei soggetti affetti da parodontite).²⁴⁻²⁶ Su questo presupposto istologico si basa la tecnica FibReORS in cui sono preservate le fibre sovracrestali adese al cemento radicolare e considerate come fondo del difetto intraosseo.¹¹ Con tale tecnica, di conseguenza, dovrebbe essere necessaria una minore ostectomia per ottenere un'architettura fisiologica della cresta ossea.¹¹ Per valutare l'efficacia di questa tecnica rispetto a quella tradizionale è stato effettuato il presente studio, in cui sono stati inseriti solo pazienti non fumatori che presentavano almeno due sestanti posteriori con difetti intraossei di limitata profondità (≤ 3 mm). Lo studio è stato condotto secondo un disegno split-mouth e la tecnica chirurgica è stata attribuita in modo randomizzato ai sestanti. L'ostectomia media, eseguita a livello del gruppo test, era pari 0.4 ± 0.2 mm rispetto a 1.0 ± 0.3 mm nei controlli con una differenza di 0.6 ± 0.2 mm. A livello del sito sperimentale era 1.9 ± 0.8 mm per il gruppo controllo e 0.5 ± 0.7 mm per il gruppo test con una differenza di 1.4 ± 1.0 mm. Il dato clinico era in linea con quello radiografico: la differenza di ostectomia misurata sulle radiografie risultava di circa 0.5 mm a favore del gruppo test. Questi risultati confermano che con la tecnica FibReORS è possibile essere più conservativi nell'eseguire l'ostectomia necessaria

per ottenere un'architettura ossea positiva. Inoltre, l'ostectomia più limitata potrebbe spiegare la minor recessione nei sestanti operati con tale tecnica.

Per quanto riguarda la PD, con entrambe le tecniche si sono ottenuti sondaggi fisiologici, dato sovrapponibile a quello riportato in letteratura.¹³

Un altro dato interessante riguarda il disagio post-operatorio. I risultati evidenziano che i pazienti operati con tecnica tradizionale lamentavano maggior dolore nelle prime due settimane della guarigione, mentre tale differenza si annullava ad un mese dalla chirurgia, quando nessun paziente manifestava dolore o disagio. Il maggior dolore post-operatorio potrebbe essere correlato con il quadro infiammatorio che si sviluppa dopo ORS e che è stato evidenziato dalle analisi istologiche e citofluorimetriche. Infatti, i campioni tissutali del gruppo controllo presentavano un quadro infiammatorio più severo, con maggior espressione dei mediatori dell'infiammazione ed, in particolare, di IL-1 α e TNF- α . Questi mediatori stimolano le cellule epiteliali a secernere CXCL5, una chemochina che promuove il richiamo dei leucociti polimorfonucleati. Inoltre, il maggior dolore post-operatorio potrebbe correlarsi, anche, con il minor grado di maturazione del tessuto epiteliocnnettivale, dimostrato dallo scompaginamento dell'architettura tissutale. Il dato citofluorimetrico relativo alla TRAP ha evidenziato un aumento significativo di tale isoenzima, espresso direttamente dagli osteoclasti, fra i prelievi al baseline e quelli alla rimozione sutura nel gruppo controllo, mentre nel gruppo test i valori rimanevano sostanzialmente invariati. Questo dato è in linea con quello dell'immunofluorescenza con anticorpo anti-CD14, marker specifico dei monociti (precursori degli osteoclasti), che risultava maggiormente espresso nei campioni del gruppo controllo. Questi risultati, pertanto, potrebbero suggerire un maggior riassorbimento osseo conseguente alla tecnica tradizionale rispetto alla FibReORS e si correlerebbero con l'analisi radiografica.

I dati istologici e la concordanza tra i risultati biomolecolari inerenti al processo differenziativo della linea monocito-osteoclastica e alla cascata infiammatoria sembrerebbero confermare una maggior intensità dei processi flogistici e del riassorbimento osseo post-chirurgico con la tecnica tradizionale rispetto alla FibReORS.

BIBLIOGRAFIA

1. Papapanou PN, Tonetti MS. Diagnosis and epidemiology of periodontal osseous lesions. *Periodontol 2000* 2000;22:8-21
2. Serino G, Rosling B, Ramberg P, Socransky SS, Lindhe J. Initial outcome and long-term effect of surgical and non-surgical treatment of advanced periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2001;28:910-6.
3. Carnevale G, Cairo F, Tonetti MS. Long-term effects of supportive therapy in periodontal patients treated with fiber retention osseous resective surgery. I: recurrence of pockets, bleeding on probing and tooth loss. *J Clin Periodontol* 2007;34:334-41.
4. Carnevale G, Cairo F, Tonetti MS. Long-term effects of supportive therapy in periodontal patients treated with fibre retention osseous resective surgery. II: tooth extractions during active and supportive therapy. *J Clin Periodontol* 2007;34:342-8.
5. Claffey N, Egelberg J. Clinical indicators of probing attachment loss following initial periodontal treatment in advanced periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1995;22:690-6.
6. Armitage GC. Manual periodontal probing in supportive periodontal treatment. *Periodontol 2000* 1996;12:33-9.
7. Grbic JT, Lamster IB. Risk indicators for future clinical attachment loss in adult periodontitis periodontitis. Tooth and site variables. *J Periodontol* 1992;63:262-9.
8. Matuliene G, Studer R, Lang NP, Schmidlin K, Pjetursson BE, Salvi GE, Brägger U, Zwahlen M. J Significance of Periodontal Risk Assessment in the recurrence of periodontitis and tooth loss. *J Clin Periodontol* 2010;37:191-9.

9. Carnevale G, Kaldahl WB. Osseous resective surgery. *Periodontol* 2000 2000;22:59-87.
10. Ochsenbein C. Osseous resection in periodontal surgery. *J Periodontol* 1958;29:15-26.
11. Carnevale G. Fibre retention osseous resective surgery: a novel conservative approach for pocket elimination. *J Clin Periodontol* 2007;34:182-7.
12. Levine HL, Stahl SS. Repair following periodontal flap surgery with the retention of gingival fibers. *J Periodontol* 1972;43:99-103.
13. Cairo F, Carnevale G, Nieri M, Mervelt J, Cincinelli S, Martinolli C, Pini-Prato GP, Tonetti MS. Benefits of fibre retention osseous resective surgery in the treatment of shallow infrabony defects: a double-blind, randomized, clinical trial describing clinical, radiographic and patient-reported outcomes. *J Clin Periodontol* 2013;40:163-71.
14. Riis P. Planning of scientific-ethical committees. *BMJ* 1977;2:173-4.
15. Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999;4:1-6.
16. Miller S C. Textbook of Periodontia. 3rd edn. Philadelphia: The Blakeston Co.,1950, p. 125.
17. Hamp S E, Nyman S, Lindhe J. Periodontal treatment of multirrooted teeth. Results after 5 years. *J Clin Periodontol* 1975;2:126-135.
18. Schei O, Waerhaug J, Lodval A, Arno A. Alveolar bone loss as related to oral hygiene and age. *J Periodontol* 1959;30:7-16.
19. Bjorn H, Halling A, Thyberg H. Radiographic assessment of marginal bone loss. *Odontol Revy* 1969;20:165-179.
20. Smith DH, Ammons WF Jr, Van Belle G. A longitudinal study of periodontal status comparing osseous recontouring with flap curettage. I. Results after 6 months. *J Periodontol* 1980;51:367-75.
21. Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD, Molvar MP, Dyer JK. Long-term evaluation of periodontal therapy: I. Response to 4 therapeutic modalities. *J Periodontol* 1996;67:92-102.
22. Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD, Molvar MP, Dyer JK. Long-term evaluation of periodontal therapy: II. Incidence of sites breaking down. *J Periodontol* 1996;67:103-8
23. Olsen CT, Ammons W, van Belle G. A longitudinal study comparing apically repositioned flap with and without osseous surgery. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1985;5:1-33.
24. Gargiulo AW, Wentz FM, Orban B. Mitotic activity of human oral epithelium exposed to 30 per cent hydrogen peroxide. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1961;14:474-92.
25. Carnevale G, Cordioli GP, Mazzocco C, Brugnolo E. Technics for gingival fiber conservation. *Dent Cadmos* 1985 15;53:15-32, 35-40.
26. Vacek JS, Gher ME, Assad DA, Richardson AC, Giambarresi LI. The dimensions of the human dentogingival junction. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1994;14:154-65.