

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

STUDIO DELLA VARIAZIONE DEL FINGERPRINTING METABOLICO NELLA PARODONTITE CRONICA E AGGRESSIVA ATTRAVERSO L'ANALISI SPETTROSCOPICA RMN DI CAMPIONI DI SALIVA

STUDY OF THE DIFFERENTIAL METABOLIC FINGERPRINTING IN CHRONIC AND AGGRESSIVE PERIODONTITIS THROUGH RMN SPECTROSCOPIC ANALYSIS OF SALIVA SAMPLES

Giacomo Baima*, **Federica Romano***, **Valeria Manavella ***, **Gaia Meoni†**, **Leonardo Tenori†‡**, **Mario Aimetti***

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

†Centro di Risonanza Magnetica (CERM), Università di Firenze, Sesto Fiorentino, Italia.

‡Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università di Firenze, Sesto Fiorentino, Italia.

Riassunto

Obiettivi di questo studio sono stati analizzare la capacità della metabolomica basata sulla risonanza magnetica nucleare (RMN) nel discriminare il “fingerprinting” metabolico della parodontite cronica generalizzata (PCG) da quello della forma aggressiva generalizzata (PAgG) in campioni di saliva e identificare i metaboliti associati alla malattia.

Gli spettri metabolomici sono stati acquisiti da prelievi di saliva non stimolata di pazienti affetti da PCG (n = 33) o PAgG (n = 28) e confrontati con quelli di individui in condizione di salute parodontale (S, n = 39). Il clustering dei soggetti è stato ottenuto attraverso l'analisi delle componenti principali e delle correlazioni canoniche sui profili degli spettri RMN.

Mentre si è ottenuta una significativa accuratezza predittiva nella discriminazione di S da PCG e da PAgG (81% per entrambi), i profili salivari di PCG e PAgG risultavano proiettati nel medesimo spazio metabolico (valore predittivo del 60%). I pazienti parodontali presentavano un metabolismo distintivo con livelli più bassi ($P < 0,05$) di piruvato, gruppi N-acetilici e lattato e più alti ($P < 0,05$) di prolina, fenilalanina e tirosina rispetto al gruppo di controllo.

Sulla base dei risultati ottenuti, la metabolomica salivare non sembra evidenziare un'impronta metabolica discriminante tra PCG e PAgG.

Abstract

This investigation was planned to determine the ability of nuclear magnetic resonance-based (RMN) metabolomics to distinguish the spectral signature of generalized chronic (GCP) and generalized aggressive periodontitis (GAgP) by analysis of human saliva and to assess potential metabolites that can successfully discriminate periodontitis.

Spectra were acquired from unstimulated saliva samples of patients suffering from GCP (n = 33) or GAgP (n = 28) and compared to those from periodontally healthy subjects (HS, n=39). The clustering of patients was achieved by using a combination of Principal Component Analysis and Canonical Correlation Analysis.

While a significant predictive accuracy was achieved in discriminating HS from both GCP and GAgP (81% both), GAgP and GCP saliva samples were projected into the same metabolic

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

space (60% predictive accuracy). Periodontitis patients exhibited a distinctive metabolism with significantly lower levels ($P < 0.05$) of pyruvate, N-acetyl groups and lactate and higher levels ($P < 0.05$) of proline, phenylalanine, and tyrosine compared to HS.

Based on these findings, metabolomics of saliva did not detect an unequivocal metabolic fingerprint differentiating CGP from GAgP.

Introduzione

La parodontite è una malattia infiammatoria cronica ad eziologia multifattoriale che causa la progressiva perdita dell'attacco parodontale e il riassorbimento dell'osso alveolare e, se non trattata, conduce alla perdita dell'elemento dentario (Kornman 2008). È ormai riconosciuto che il principale fattore iniziante la patologia sia la disbiosi a carico del biofilm batterico sottogengivale (Roberts e Darveau 2015), anche se estensione e gravità della distruzione tissutale sono principalmente imputabili alla risposta dell'ospite alla componente microbica (Bartold e Van Dyke 2013; Papapanou 2014).

La parodontite può avere presentazioni cliniche eterogenee. Il tradizionale schema classificativo oggi in uso (Armitage 1999) riconosce due principali forme cliniche di malattia, la parodontite cronica (PC) e la parodontite aggressiva (PAG), la cui diagnosi differenziale si basa principalmente sul rilievo di dati anamnestici, di parametri clinici e sull'analisi radiografica. Non esistono, infatti, caratteristiche microbiologiche o istopatologiche che permettano una discriminazione inequivocabile tra le due condizioni (Armitage 2010; Ji e Choi 2015). Per questo motivo la ricerca si è indirizzata negli ultimi anni verso l'analisi dei network e pathway biochimici coinvolti nell'insorgenza e nella progressione della malattia parodontale, indicando una serie di potenziali biomarkers che potrebbero essere utili per differenziare tra i suoi diversi fenotipi (Buduneli e Kinane 2011; Loos e Papapanou 2013). Tra i fluidi biologici la saliva è particolarmente promettente in quanto può riflettere processi fisiologici e/o patologici a carico dell'intero organismo (Zhang et al. 2016; Rathnayake et al. 2017). Inoltre, il prelievo è rapido, non invasivo e di facile accettazione per il paziente (Kinney et al. 2011).

I recenti progressi in ambito tecnologico hanno reso possibile un miglioramento nella comprensione dei sistemi biologici e un avanzamento nella ricerca sul fluido salivare grazie alle scienze omiche. Tra di esse, la metabolomica potrebbe avere notevoli potenzialità nella discriminazione tra PC e PAG. Essa, attraverso l'identificazione e la quantificazione di molecole a basso peso molecolare (< 1500 Da) presenti in linee cellulari, organi o organismi, si propone di individuare quello che è il fenotipo individuale (German et al. 2005). Tale “metabotipo”, nonostante vada incontro a continue modifiche in seguito alle interazioni con l'ambiente esterno e all'alternarsi dei cicli fisiologici, mostra una porzione stabile nel tempo e caratteri fortemente individuo-specifici (Clark e Haselden 2008). Grazie all'analisi statistica multivariata dei dati acquisiti mediante risonanza magnetica nucleare (RMN) e spettrometria di massa, è già stato possibile differenziare i soggetti affetti da malattie parodontali da quelli sani utilizzando campioni di fluidi orali (Barnes et al. 2011; Aimetti et al. 2012; Ozek et al. 2016).

Rimane da esplorare la possibilità di impiegare l'analisi metabolomica basata sulla RMN per discriminare i profili metabolici di PC e PAG. Obiettivi di questo studio pilota sono stati, dunque, analizzare l'accuratezza dell'analisi metabolomica salivare nel discriminare tra i “fingerprinting” metabolici della parodontite cronica generalizzata (PCG) e aggressiva generalizzata (PAGG) e identificare i metaboliti associati ad un quadro clinico di parodontite rispetto ad una condizione di salute parodontale (S).

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Materiali e Metodi

Il Comitato Etico Istituzionale (numero 1503/2016) ha approvato il protocollo di questo studio trasversale che è stato condotto in accordo alla dichiarazione di Helsinki e correttamente riportato secondo le linee guida STROBE. Tutti i partecipanti hanno firmato il consenso informato.

Disegno dello studio e selezione del campione

Sono stati reclutati in modo consecutivo 100 pazienti, bilanciati per genere ed abitudine al fumo, nel periodo compreso tra gennaio e settembre 2017 tra quelli inviati per una visita di consulenza presso il C.I.R. Dental School, Università di Torino. La numerosità campionaria è stata stabilita sulla base dell'ampiezza campionaria di studi precedenti e in considerazione della natura pilota di questa sperimentazione.

I criteri di esclusione prevedevano: assunzione di antibiotici nei 3 mesi precedenti, terapia parodontale negli ultimi 6 mesi, alterazioni della funzionalità salivare, malattie sistemiche che possono influire sulle condizioni parodontali o sul profilo immunologico, gravidanza e allattamento.

Valutazione parodontale e prelievo della saliva

La diagnosi di malattia parodontale è stata stabilita sulla base dei criteri dell'American Academy of Periodontology (Armitage 1999), attraverso un esame clinico e radiografico sistematico da parte di due clinici esperti e calibrati. Le misure cliniche sono state rilevate su 6 siti per dente mediante una sonda parodontale (PCP-UNC 15, Hu-Friedy) e arrotondate al millimetro più prossimo. Includevano la presenza di placca (PI 0/1), la presenza di sanguinamento al sondaggio (BoP 0/1), la profondità di sondaggio (PD), la recessione gengivale (REC) e il livello di attacco clinico (CAL). Sono stati registrati anche il full mouth plaque score (FMPS) e il full mouth bleeding score (FMBS). Per la riproducibilità intra-esaminatore (misure ripetute due volte a distanza di 24 h nello stesso paziente) ed inter-esaminatore (rispetto al direttore del progetto) sono stati selezionati 15 pazienti che non hanno preso parte allo studio. La percentuale di accordo, con uno scarto di ± 1 mm, è stata per CAL e PD compresa tra il 94 e il 97%.

I pazienti con PCG dovevano avere almeno il 30% dei siti con PD >5 mm, placca visibile e BoP. La diagnosi di PAgG si è basata sui seguenti criteri: pazienti con età < 35 anni, aggregazione familiare dei casi, rapida progressione, presenza di almeno 6 primi molari o incisivi permanenti con almeno un sito con PD e CAL > 5 mm ed almeno 6 denti permanenti diversi dai primi molari e incisivi con almeno un sito con PD e CAL > 5 mm (Duarte et al. 2010).

Il gruppo controllo (S) comprendeva soggetti con PD e CAL ≤ 3 mm su tutti i siti, nessuna evidenza radiografica di perdita ossea alveolare e FMBS $< 15\%$.

I prelievi di saliva intera non stimolata sono stati effettuati tra le 8:00 e le 10:00 del mattino a distanza di almeno 24 ore dall'esame parodontale, per evitare contaminazioni ematiche, secondo la tecnica descritta da Silwood nel 1999. I pazienti sono stati istruiti a non mangiare, bere, fumare, lavarsi denti ed effettuare sciacqui con collutorio nell'ora precedente il prelievo e a lasciar fluire la saliva all'interno di una provetta sterile graduata per 10 minuti. Per ogni paziente è stato raccolto 1 ml di saliva, immediatamente congelato a -80°C ed inviato al CERM di Firenze per le analisi.

Preparazione dei campioni per la RMN

I campioni di saliva sono stati riportati a temperatura ambiente e centrifugati per rimuovere i detriti (5000g per 30 min a 4°C). Sono stati aggiunti a 300 μl di ciascun

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

campione un totale di 300 µl di tampone di fosfato di sodio (70 mM Na₂ HPO₄; 20% (v/v) H₂O; 6,15 mM NaN₃; 6,64 mM sodio trimetilsilil [2,2,3, 3-2 H₄]; propionato (TMSP) a pH 7,4) e la miscela è stata omogeneizzata in una centrifuga per 30 s con l'aggiunta di NaN₃. Un totale di 450 µl di questa miscela è stato trasferito in una provetta per le analisi.

Acquisizione ed analisi delle immagini spettrali

Gli spettri dei campioni sono stati acquisiti con uno spettrometro Bruker (Bruker BioSpin srl) operante a 14,1T (600,13 MHz proton Larmor frequency) a una temperatura di stabilizzazione di circa 0,1 K. Per ciascun campione di saliva si è acquisito uno spettro ¹H-RMN utilizzando la sequenza pulsatile NOESY PRESAT (Bruker terminology: noesygpprd.comp) con 64 FID (*free induction decay*) raccolti in 65536 punti attorno a una larghezza spettrale di 12019 Hz, tempo di rilassamento di 4 s e tempo di miscela di 0,1 s.

Gli spettri ottenuti sono stati corretti per le distorsioni di fase, calibrati (segnale protonico di TMSP a 0,00 ppm) con il software TopSpin (Version 2.1; Bruker BioSpin) e allineati calibrando i picchi TMSP a 0,00 ppm. Ciascuno degli spettri monodimensionali compresi nei range 0,2-4,3 e 6,6-10,0 ppm è stato segmentato in raggruppamenti chimici di 0,02 ppm e le corrispondenti aree spettrali integrate utilizzando un software AMIX (Bruker BioSpin, version 3.8.4). L'area spettrale totale è stata calcolata sui rimanenti raggruppamenti e la normalizzazione dell'area totale eseguita sui dati prima dell'analisi di riconoscimento dei pattern (Holmes et al. 1994; Spraul et al. 1994).

Analisi statistica

Le analisi sono state eseguite in cieco utilizzando il pacchetto statistico R. Le differenze tra i gruppi sono state analizzate mediante l'analisi della varianza e test post hoc per i dati clinici. Per studiare i profili metabolomici dei pazienti con PCG, PAGG e S (Madsen et al. 2010) sono state utilizzate una combinazione dell'analisi delle componenti principali (PCA) e dell'analisi di correlazione canonica (CA) sui valori di PCA. L'algoritmo di riconoscimento dei pattern kNN (*K-nearest neighbors*, k = 5) è stato impiegato sui valori di CA per predire i campioni, mentre lo schema di cross-validazione Monte Carlo per testare l'accuratezza globale della classificazione.

I 22 metaboliti maggiormente responsabili della discriminazione tra i gruppi sono stati identificati grazie alla libreria degli spettri RMN dei composti organici e database come HMDB. Le concentrazioni relative di questi metaboliti sono state calcolate integrando i segnali presenti nei rispettivi spettri (Wishart 2008) utilizzando gli script Matlab®. La significatività statistica tra i gruppi è stata valutata utilizzando il test Wilcoxon. Le variazioni tra metaboliti sono state espresse come fold change (FC) che corrisponde al log₂ del rapporto tra i valori mediani delle concentrazioni di metaboliti tra pazienti con parodontite e sani. P < 0,05 è stato considerato statisticamente significativo.

Risultati

Caratteristiche della popolazione

Nello studio sono stati reclutati un totale di 100 pazienti caucasici di cui 33 con PCG, 29 con PAGG e 39 in condizione di salute parodontale. Come riportato nella Tabella 1, non sono emerse differenze statisticamente significative tra i tre gruppi relativamente a genere e abitudine al fumo. Come atteso, i valori medi di FMPS, FMBS, PD e CAL erano più elevati nei pazienti con PAGG e PCG rispetto ai controlli sani (P < 0,001). Quando comparati tra loro, i gruppi con PCG e PAGG differivano soltanto per i valori di FMPS (P < 0,001).

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Tabella 1. Caratteristiche demografiche e cliniche del campione (media \pm deviazione standard)

Parametro	Gruppo S (n=39)	Gruppo PGC (n=33)	Gruppo PAgG (n=28)
Età (anni)	46,6 \pm 8,2	50,5 \pm 8,9	31,1 \pm 4,6*
Donne/uomini (n)	14/25	12/21	10/18
Fumatori/non fumatori (n)	6/33	5/28	4/24
FMPS (%)	12,3 \pm 2,3	62,1 \pm 25,8*	45,1 \pm 17,4*
FMBS (%)	9,7 \pm 3,2	52,3 \pm 20,8*	59,6 \pm 18,2*
PD (mm)	2,2 \pm 0,3	5,2 \pm 0,8*	5,5 \pm 1,0*
CAL (mm)	2,3 \pm 0,4	5,8 \pm 1,0*	6,0 \pm 0,9*

* $P < 0,001$ rispetto al gruppo di controllo (S).

Profilo metabolomico salivare

Il clustering dei pazienti sani o con patologia parodontale si è basato sulle analisi PCA/CA sui profili ^1H -RMN dei campioni salivari (Fig. 1).

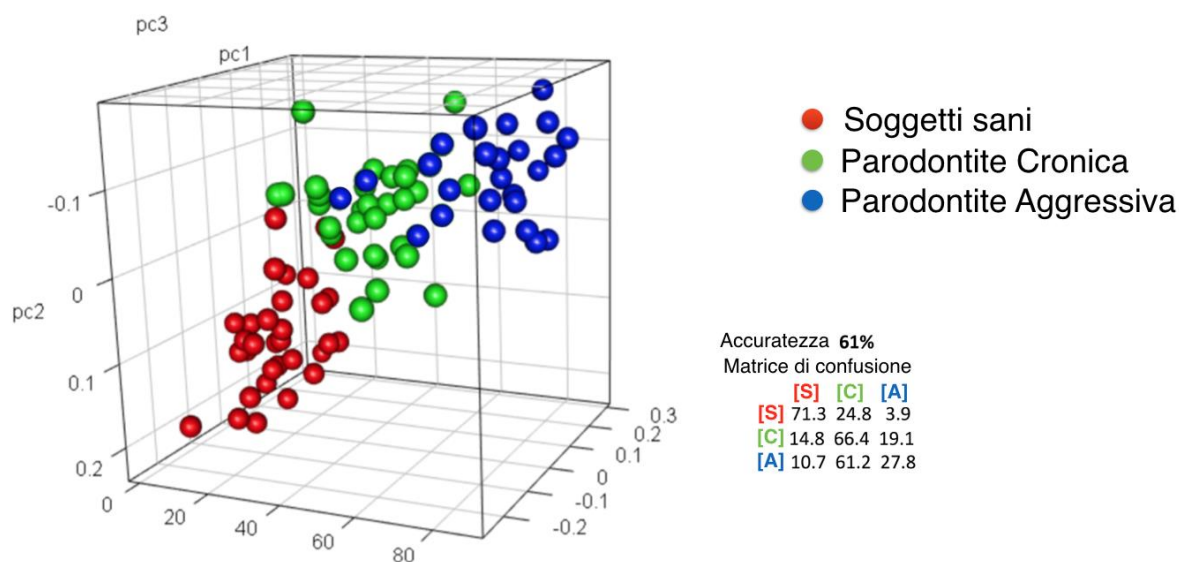


Figura 1. Discriminazione negli spettri salivari di pazienti sani e con parodontite con l'approccio PCA/CA. I soggetti sani sono localizzati nella parte inferiore sinistra dello spazio metabolico. pc (principal component): componente principale.

Il modello ha raggiunto un'accuratezza predittiva dell'81% nel discriminare gli individui sani sia dai pazienti con PCG sia dai pazienti con PAgG (Fig. 2 A, B). I risultati del test di permutazione (numero di permutazioni= 100), statisticamente significativi ($P < 0,001$), hanno evidenziato la buona accuratezza classificativa del modello. Il “fingerprinting” metabolomico è stato in grado di discriminare tra pazienti sani e affetti da parodontite, mentre non lo è stato nel discriminare tra le due forme cliniche di parodontite (accuratezza predittiva del 60%). I campioni salivari provenienti dai pazienti con PCG e PAgG sembravano appartenere allo stesso spazio metabolico (Fig. 3).

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

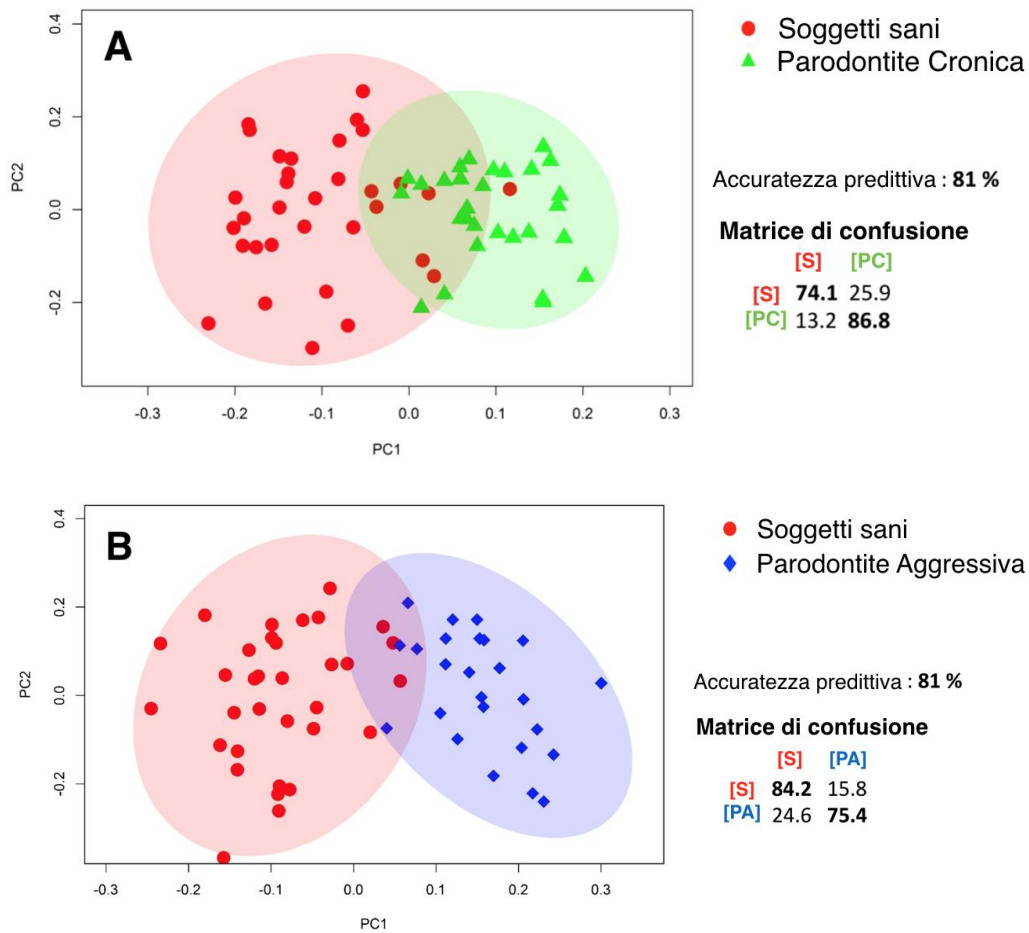


Figura 2. A. Discriminazione nello spettro salivare tra individui con parodontite cronica e sani. B. Discriminazione nello spettro salivare tra individui con parodontite aggressiva e sani. PC (principal component): componente principale.

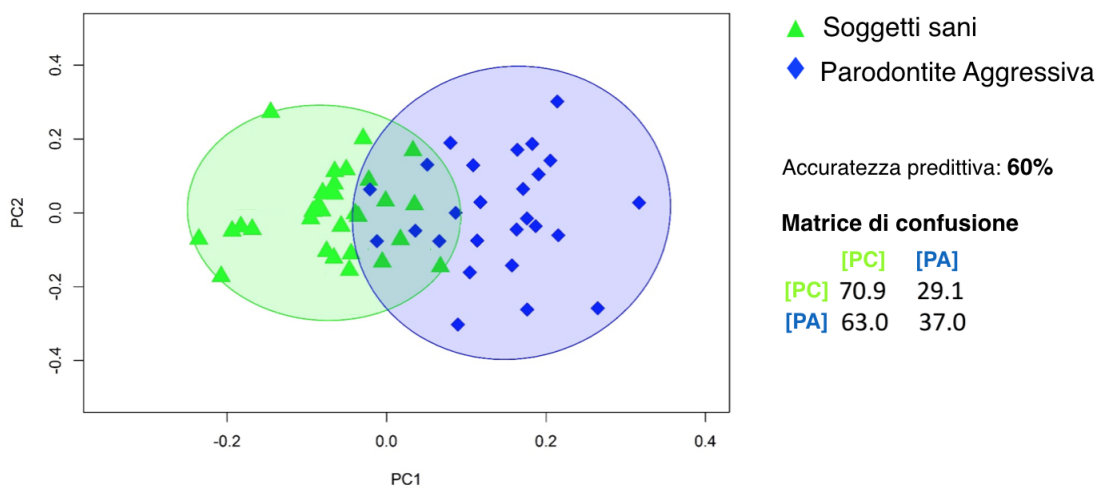


Figura 3. Discriminazione nello spettro salivare tra individui con parodontite cronica ed aggressiva. I due gruppi appaiono omogeneamente proiettati nello spazio metabolomico (60% di accuratezza discriminativa). PC (principal component): componente principale.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Metaboliti associati alla malattia parodontale

I valori delle concentrazioni relative dei metaboliti salivari dei pazienti con parodontite e di quelli in condizione di salute parodontale sono stati stimati attraverso l'integrazione dei segnali dello spettro RMN. La quantificazione assoluta dei metaboliti non è stata eseguita, pertanto le concentrazioni sono riportate in unità arbitrarie consentendo di investigare solo le differenze relative tra i gruppi.

I pazienti parodontali sembrerebbero avere un metabolismo distintivo. Dalla comparazione tra gli spettri dei campioni salivari dei pazienti con parodontite e di quelli sani è emerso che i pazienti con PCG sono caratterizzati da più bassi livelli di ($P < 0,05$) di piruvato, gruppi N-acetilici and lattato e da livelli più elevati ($P < 0,05$) di prolina, fenilalanina, isoleucina, valina and tirosina, come riportato nella Figura 4A e nella Tabella 2. I pazienti con PAgG sono, invece, caratterizzati da livelli inferiori ($P < 0,05$) di piruvato, gruppi N-acetilici, lattato e sarcosina, e da valori più elevati ($P < 0,05$) di formato, fenilalanina e tirosina (Fig. 4B).

Tabella 2. Metaboliti discriminanti [mediana \pm MAD (deviazione media assoluta)] tra i controlli sani e i pazienti con parodontite. PCG: parodontite cronica generalizzata; PAgG: parodontite aggressiva generalizzata; S: sani.

Variabile	Soggetti sani (n=39)	Gruppo PCG (n=33)	P Value S vs PCG	Gruppo PAgG (n=28)	P value S vs PAgG
Isoleucina	0,13134404 \pm 0,06426435	0,2019391 \pm 0,07464959	0,0029	0,16894522 \pm 0,07098764	0,4120
Valina	0,07869439 \pm 0,03965957	0,11559132 \pm 0,07464959	0,0037	0,11452365 \pm 0,08066193	0,1661
Propionato	0,59803163 \pm 0,20712703	0,59258759 \pm 0,26467948	0,9720	0,68122853 \pm 0,54395153	0,3395
Isopropanolo	0,0504893 \pm 0,0483569	0,02809140 \pm 0,02978069	0,1308	0,02845722 \pm 0,04092747	0,2916
Etanolo	0,05515916 \pm 0,04515907	0,03663926 \pm 0,0317967	0,1999	0,05194470 \pm 0,05198074	0,8935
Lattato	0,24940672 \pm 0,61995248	0,13944799 \pm 0,05899849	0,0007	0,08675795 \pm 0,10816035	0,0044
Alanina	0,209794187 \pm 0,08302258	0,24546705 \pm 0,10664733	0,1920	0,20744606 \pm 0,15231503	0,9922
Butirrato	0,04776767 \pm 0,03256429	0,04076956 \pm 0,03058778	0,9031	0,05815527 \pm 0,04301668	0,5957
Acetato	13,5029942 \pm 3,04597609	13,2665201 \pm 4,10825965	0,9412	13,4623605 \pm 5,74416019	0,8209
Gruppi N-acetilici	0,7470707 \pm 0,46330607	0,3752415 \pm 0,2294052	0,0086	0,35232245 \pm 0,45111325	0,0481
Prolina	0,04490115 \pm 0,03301489	0,07075722 \pm 0,0462079	0,0221	0,08529403 \pm 0,0593811	0,11708
Piruvato	0,27237332 \pm 0,34326147	0,08259646 \pm 0,0503986	0,0001	0,08826433 \pm 0,06315526	0,0044
Succinato	0,06509401 \pm 0,12614590	0,06685424 \pm 0,0822175	0,9720	0,17149613 \pm 0,12419512	0,33956

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Variabile	Soggetti sani (n=39)	Gruppo PCG (n=33)	P Value S vs PCG	Gruppo PAGG (n=28)	P value S vs PAGG
Metilamina	0,02311899 ± 0,01061543	0,02307759 ± 0,01142731	0,9031	0,02222578 ± 0,01077311	0,871396172
Sarcosina	0,02592511 ± 0,02006617	0,01881152 ± 0,01196017	0,2134	0,01329193 ± 0,00751689	0,0086
GABA	0,12831713 ± 0,06669022	0,12495456 ± 0,08509027	0,9637	0,15837022 ± 0,11324637	0,6568
Colina	0,19668382 ± 0,1026644	0,20486807 ± 0,06902886	0,9412	0,16269168 ± 0,14600182	0,8483
Metanolo	0,083405087 ± 0,17874233	0,08252369 ± 0,07012703	0,9720	0,08263572 ± 0,17869551	0,8209
Glicina	0,62582332 ± 0,20507158	0,65052561 ± 0,30340402	0,1920	0,65755726 ± 0,54889334	0,6707
Tirosina	0,056849 ± 0,0210807	0,07985564 ± 0,02008946	0,0297	0,08330385 ± 0,03725721	0,0481
Fenilalanina	0,09162213 ± 0,0417894	0,14305737 ± 0,04423015	0,0007	0,14300188 ± 0,04453712	0,0099
Formato	0,00455631 ± 0,02086606	0,00860480 ± 0,0684531	0,1197	0,01339967 ± 0,07311111	0,0086

B

FOLD CHANGE PAGG vs S

PIÙ ALTI IN PAGG <-----> PIÙ ALTI IN S

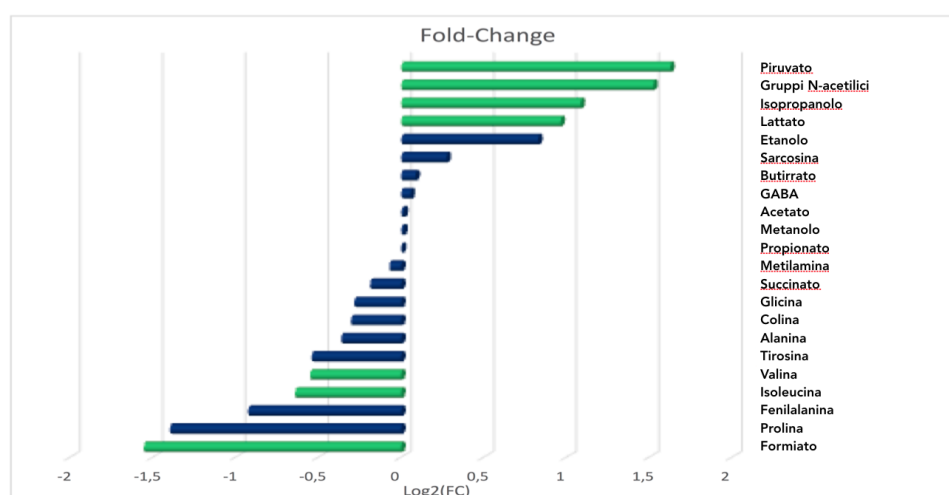


Figura 4. Cambiamenti nei livelli di metaboliti tra individui sani e affetti da parodontite cronica (A) e tra individui sani ed affetti da parodontite aggressiva (B) espressi come fold change (FC) che corrisponde al log2 del rapporto tra le intensità mediane normalizzate dei segnali negli spettri dei due gruppi. PCG: parodontite cronica generalizzata; PAGG: parodontite aggressiva generalizzata; S: sani.

Conclusioni

Il presente studio è stato condotto per verificare l'accuratezza dell'approccio metabolomico basato sulla RMN nel differenziare le impronte biochimiche della PCG da quelle della PAGG nella saliva umana. Nonostante l'analisi multivariata abbia messo in

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

evidenza differenze significative nella distribuzione all'interno dello spazio metabolico degli spettri RMN in condizione di salute o patologia parodontale, essa non ha raggiunto un'accuratezza sufficiente per discriminare i profili dei pazienti affetti da PCG e da PAgG. Questo è in accordo con una serie crescente di dati sperimentali e confermerebbe la difficoltà nel differenziare la forma aggressiva di parodontite sulla base di oggettive caratteristiche microbiologiche, istopatologiche o molecolari (Van der Velden 2017). Rispetto ad altre tecniche ad alto rendimento, l'analisi metabolomica RMN ha la capacità di fotografare il punto di arrivo del complesso pathway eziologico che sottende la patogenesi della malattia parodontale. Le piccole molecole derivate dalla comunità batterica disbiotica e dalla distruzione dei tessuti dell'ospite, bersaglio della metabolomica, sono potenzialmente capaci di riflettere in tempo reale quello che è il fenotipo molecolare della malattia (Barros et al. 2016). Tenendo conto dei risultati di questa ricerca e dell'evidenza di numerose impronte molecolari distinte nelle lesioni parodontali (Loos and Papantopoulos 2013), la tradizionale classificazione binomiale delle parodontiti (Armitage 1999) sembra non essere più in grado di spiegare questa emergente eterogeneità.

Obiettivo secondario dello studio è stato valutare il potenziale della metabolomica nell'identificazione di robusti markers biologici salivari per la diagnosi parodontale. La discriminazione tra i campioni salivari dei pazienti con parodontite, indipendentemente dalla forma clinica di malattia, e quelli dei soggetti in condizione di salute parodontale rafforza l'evidenza di un'impronta metabolica salivare propria della parodontite (Barnes et al. 2011). I profili spettrali RMN del campione di pazienti esaminati nel presente studio sono dominati dal segnale di 20 - 30 molecole (Wallner-Liebmann et al. 2016). Le concentrazioni relative di tali metaboliti sono state stimate tramite l'integrazione dei rispettivi segnali spettrali RMN e si sono rivelate in linea con i risultati di una precedente pubblicazione (Aimetti et al. 2012). L'aumentato livello di acidi grassi, dipeptidi e monosaccaridi indica una parallela sovraregolazione delle attività lipasiche, proteasiche e glicosidasiche evidenziata nella parodontite. Una conseguenza della degradazione delle macromolecole è l'elevata disponibilità di metaboliti facilmente accessibili dal microbiota orale per la produzione di energia, nonché la creazione di un ambiente ideale per la moltiplicazione batterica. È noto che il lattato possa essere metabolizzato ad acetato e propionato da specie batteriche quali *Haemophilus parainfluenzae*, *Neisseria sicca*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Arachnia* e *Veillonella* (Distler e Kroncke 1981; Traudt e Kleinberg 1996) spiegandone così la relativa deplezione. I ridotti livelli di lattato, osservati nei campioni di saliva dei pazienti con GCP, determinano un abbassamento di piruvato, per la ridotta attività della L-lattico deidrogenasi. Ulteriori conferme dei risultati ottenuti derivano dal lavoro di Yoshida et al. (2015) nel quale si descrivono le vie metaboliche del *P. gingivalis* spiegando ulteriormente la deplezione di piruvato.

Infine, è interessante evidenziare i livelli significativamente più elevati di prolina, fenilalanina, isoleucina, valina e tirosina nella saliva dei pazienti parodontali rispetto ai soggetti sani come conseguenza della degradazione proteolitica dei tessuti dell'ospite, di nuovo in accordo con gli studi di Barnes et al. (2011).

I risultati di questa ricerca devono essere interpretati considerandone i limiti. Una delle maggiori controversie circa il significato dei metaboliti nei fluidi orali nasce dall'impossibilità di determinarne l'origine. Potrebbero, infatti, essere costituenti propri della saliva del paziente, derivare dalla distruzione dei tessuti o essere un prodotto delle

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

comunità batteriche, persino dei microrganismi costituenti la placca sopragengivale. Per questo motivo Kuboniwa et al. (2016) hanno proposto di eseguire lo scaling sopragengivale prima di raccogliere campioni salivari dimostrando un aumento della capacità predittiva del modello. Nel presente studio, tuttavia, non è stata effettuata alcuna seduta di scaling. È importante considerare che la parodontite è una patologia che coinvolge il cavo orale nella sua globalità (Champagne et al. 2003) ed essere in grado di individuare differenze in un ambiente altamente rumoroso avrebbe indubbiamente più impatto sullo sviluppo di uno strumento diagnostico rapido e non invasivo.

Un altro aspetto da considerare è che il campione è stato bilanciato per genere e per abitudini tabagiche, ma non per età. La parodontite aggressiva colpisce, infatti, mediamente soggetti più giovani della forma cronica. Tuttavia, uno studio pubblicato recentemente in letteratura (Aimetti et al. 2012) ha dimostrato che l'impronta salivare è in grado di discriminare tra fumatori e non fumatori, tra giovani (14 - 40 anni) e anziani (58-73 anni) e tra uomini e donne con un'accuratezza piuttosto bassa, pari rispettivamente al 62,5%, 46,7% e 48,1%. In questo modo, si sono potuti escludere possibili bias attribuibili a fattori di confondimento. L'unico metabolita risultato discriminante ($P < 0,05$) è stato il piruvato (più alto nel gruppo dei fumatori), come anche riportato da Takeda et al. (2009). Gli altri metaboliti riportati come significativi nello stesso lavoro non lo erano nel presente campione.

Una delle maggiori sfide nella parodontologia clinica rimane quella di individuare un marker di distruzione tissutale che presenti elevata sensibilità e specificità, ma questo è reso complesso dall'incertezza che ancora permane nell'interpretazione della fluttuazione dei metaboliti nell'ecosistema orale durante la patogenesi della parodontite (Hajishengallis e Korostoff 2017). Presumibilmente, la maggior preoccupazione per un clinico dovrebbe essere rivolta, più che alla distinzione tra parodontite cronica ed aggressiva, all'identificazione precoce dei siti con distruzione tissutale, alla valutazione del rischio di progressione specifico per il paziente e al monitoraggio in tempo reale dell'attività della malattia. In questi termini, la metabonomica potrebbe rivelarsi di maggior interesse per il clinico. La complessa eziologia della parodontite renderà necessario eseguire trial clinici con un'elevata numerosità campionaria ed impiegare tecniche analitiche e analisi multivariate che prevedano una valutazione multiomica della saliva.

Bibliografia

- Armitage GC. 1999. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 4(1):1-6.
- Armitage GC. 2010. Comparison of the microbiological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000.* 53:70-88.
- Aimetti M, Cacciatore S, Graziano A, Tenori L. 2012. Metabonomic analysis of saliva reveals generalized chronic periodontitis signature. *Metabolomics.* 8(3):465-474.
- Barnes VM, Ciancio SG, Shibly O, Xu T, Devizio W, Trivedi HM, Guo L, Jonsson TJ. 2011. Metabolomics reveals elevated macromolecular degradation in periodontal disease. *J Dent Res.* 90(11):1293-1297.
- Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T. 2016. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontol 2000.* 70(1):53-64.
- Bartold PM, Van Dyke TE. 2013. Periodontitis: a host-mediated disruption of microbial homeostasis. *Unlearning learned concepts. Periodontol 2000.* 62(1):203-217.
- Benjamini Y, Hochberg Y. 2000. On the adaptive control of the false discovery rate in multiple testing with independent statistics. *J Educ Behav Stat.* 25(1):60-83.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

- Buduneli N, Kinane DF. 2011. Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 38 (Suppl 11):85–105.
- Champagne CME, Buchanan W, Reddy MS, Preisser JS, Beck JD, Offenbacher S. 2003. Potential for gingival crevice fluid measures as predictors of risk for periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 31:167–180.
- Clark CJ, Haselden JN. 2008. Metabolic profiling as a tool for understanding mechanisms of toxicity. *Toxicol Pathol.* 36(1):140-147.
- Distler W, Kroncke A. 1981. Acid formation by mixed cultures of dental plaque bacteria *Actinomyces* and *Veillonella*. *Arch Oral Biol.* 26:123–126.
- Duarte PM, da Rocha M, Sampaio E, Mestnik FJ, Feres M, Figueiredo LC, Bastos MF, Faveri M. 2010. Serum levels of cytokines in subjects with generalized chronic and aggressive periodontitis before and after non-surgical periodontal therapy: a pilot study. *J Periodontol.* 81(7):1056-1063.
- German JB, Hammock BD, Watkins SM. 2005. Metabolomics: building on a century of biochemistry to guide human health. *Metabolomics.* 1(1):3–9.
- Giannobile WV. 2012. Salivary diagnostics for periodontal diseases. *J Am Dent Assoc.* 143(10 Suppl):6S–11S.
- Hajishengallis G, Korostoff JM. 2017. Revisiting the Page & Schroeder model: the good, the bad and the unknowns in the periodontal host response 40 years later. *Periodontol 2000.* 75(1):116–151.
- Holmes E, Foxall PJ, Nicholson JK, Neild GH, Brown SM, Beddell CR, Sweatman BC, Rahr E, Lindon JC, Spraul M, et al. 1994. Automatic data reduction and pattern recognition methods for analysis of 1H nuclear magnetic resonance spectra of human urine from normal and pathological states. *Anal Biochem.* 220(2):284–296.
- Ji S, Choi Y. 2015. Point-of-care diagnosis of periodontitis using saliva: technically feasible but still a challenge. *Front Cell Infect Microbiol.* 5:65.
- Kebschull M, Guarnieri P, Demmer RT, Boulesteix AL, Pavlidis P, Papapanou PN. 2013. Molecular differences between chronic and aggressive periodontitis. *J Dent Res.* 92(12):1081-1088.
- Kinney JS, Morelli T, Braun T, Ramseier CA, Herr AE, Sugai JV, Shelburne CE, Rayburn LA, Singh AK, Giannobile WV. 2011. Saliva/pathogen biomarker signatures and periodontal disease progression. *J Dent Res.* 90(6):752–758.
- Könönen E, Müller HP. 2014. Microbiology of aggressive periodontitis. *Periodontol 2000.* 65(1):46–78.
- Kornman KS. 2008. Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *J Periodontol.* 79(8 Suppl):1560–1568.
- Kuboniwa M, Sakanaka A, Hashino E, Bamba T, Fukusaki E, Amano A. 2016. Prediction of periodontal inflammation via metabolic profiling of saliva. *J Dent Res.* 95(12):1381-1386.
- Loos BG, Papantonopoulos G. 2013. Molecular biotypes for periodontal diseases? *J Dent Res.* 92(12):1056–1057.
- Madsen R, Lundstedt T, Trygg J. 2010. Chemometrics in metabolomics--a review in human disease diagnosis. *Anal Chim Acta.* 659(1-2):23–33.
- Mikkonen JJW, Singh SP, Herrala M, Lappalainen R, Myllymaa S, Kullaa AM. 2016. Salivary metabolomics in the diagnosis of oral cancer and periodontal diseases. *J Periodontol Res.* 51(4):431-437.
- Nibali L, D’Aiuto F, Ready D, Parkar M, Yahaya R, Donos N. 2012. No association between *A. actinomycetemcomitans* or *P. gingivalis* and chronic or aggressive periodontitis diagnosis. *Quintessence Int.* 43(3): 247–254.
- Ozek NS, Zeller I, Renaul DE, Gumus P, Nizam N, Severcan F, Buduneli N, Scott DA. 2016. *J Dent Res* 95(13):1472-1478.
- Papapanou PN. 2014. Commentary: advances in periodontal disease epidemiology: a retrospective commentary. *J Periodontol.* 85(7):877–879.
- Rathnayake N, Gieselmann DR, Heikkinen AM, Tervahartiala T, Sorsa T. 2017. Salivary Diagnostics-Point-of-Care diagnostics of MMP-8 in dentistry and medicine. *Diagnostics (Basel).* 7(1). pii: E7. doi: 10.3390/diagnostics7010007.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

- Roberts FA, Darveau RP. 2015. Microbial protection and virulence in periodontal tissue as a function of polymicrobial communities: symbiosis and dysbiosis. *Periodontol 2000*. 69(1):18–27.
- Silwood CJL, Lynch EJ, Seddon S, Sheerin A, Claxson AWD, Grootveld MC. 1999. ¹H-NMR analysis of microbial-derived organic acids in primary root carious lesions and saliva. *NMR Biomed*. 12(6):345–356.
- Spraul M, Neidig P, Klauck U, Kessler P, Holmes E, Nicholson JK, Sweatman BC, Salman SR, Farrant RD, Rahr E, et al. 1994. Automatic reduction of NMR spectroscopic data for statistical and pattern recognition classification of samples. *J Pharm Biomed Anal*. 12(10):1215–1225.
- Takeda I, Stretch C, Barnaby P, Bhatnager K, Rankin K, Fu H, et al. Understanding the human salivary metabolome. *NMR Biomed*. 2009;22(6):577–84.
- Traudt M, Kleinberg I. 1996. Stoichiometry of oxygen consumption and sugar, organic acid and amino acid utilization in salivary sediment and pure cultures of oral bacteria. *Arch Oral Biol*. 41:965–978.
- Van der Velden U. 2017. What exactly distinguishes aggressive from chronic periodontitis: is it mainly a difference in the degree of bacterial invasiveness? *Periodontol 2000*. 75(1):24–44.
- Wallner-Liebmann S, Tenori L, Mazzoleni A, Dieber-Rotheneder M, Konrad M, Hofmann P, Luchinat C, Turano P, Zatloukal K. 2016. Individual Human Metabolic Phenotype Analyzed by (¹H) NMR of Saliva Samples. *J Proteome Res*. 15(6):1787–1793.
- Wishart DS. 2008. Quantitative metabolomics using NMR. *TrAC Trends Anal. Chem.* 27(3): 228–237.
- Xia J, Sinelnikov IV, Han B, Wishart DS. 2015. MetaboAnalyst 3.0--making metabolomics more meaningful. *Nucleic Acid Res*. 43:W251-257.
- Yoshida Y, Sato M, Nagano K, Hasegawa Y, Okamoto T, Yoshimura F. 2015. Production of 4-hydroxybutyrate from succinate semialdehyde in butyrate biosynthesis in *Porphyromonas gingivalis*. *Biochim Biophys Acta*. 1850(12):2582–91.
- Zhang Y, Sun J, Lin CC, Abemayor E, Wang MB, Wong DTW. 2016. The emerging landscape of salivary diagnostics. *Periodontol 2000*. 70(1):38-52.
- Ziukaite L, Slot DE, Loos BG, Coucke W, Van der Weijden GA. 2017. Family history of periodontal disease and prevalence of smoking status among adult periodontitis patients: a cross-sectional study. *Int J Dent Hyg*. 15:e28-e34.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

PREVALENZA E INDICATORI DI RISCHIO DELLA PERIMPLANTITE IN UN CAMPIONE DI PAZIENTI PROVENIENTI DA UNA CLINICA UNIVERSITARIA IN ITALIA: STUDIO CROSS-SECTIONAL

Di Domenico G.L.¹, Vignoletti F.^{1,2}, Di Martino M.¹, de Sanctis M.¹

¹ Dipartimento di Parodontologia, Dental School, Università Vita-San Raffaele, Milano

² Department of Periodontology, University Complutense of Madrid

Abstract

Background & Aim: Reports regarding prevalence of peri-implant diseases show widely varying prevalence rates, which can be explained partially by variable diagnostic criteria adopted by different studies. Furthermore, several different factors have been associated with peri-implantitis. Hence, the aim of this cross-sectional study is to i. determine the prevalence, extent and severity of peri-implant diseases in patients enrolled in a University Dental Clinic and ii. to evaluate the association between peri-implantitis and patient/implant-related factors.

Methods: 237 patients attending a maintenance appointment at the Dental Department of Vita-Salute San Raffaele University (Milan) with 831 implants, with more than one year of follow-up after loading, were included and clinically examined. Implants showing the presence of bleeding on probing/suppuration and/or PPD>4mm were radiographically analyzed. Demographic and clinical data were collected to evaluate association of these factors with peri-implantitis.

Results: On the patient level, the prevalence of peri-implant mucositis and peri-implantitis were 38.8% and 35%, respectively. A multivariate logistic regression showed that presence of deep pockets (>4mm), plaque and absence of at least 1 mm of keratinized mucosa were associated with peri-implantitis.

Conclusions: Peri-implant diseases are common conditions and several patient/implant-related factors may influence the risk for their development.

Introduzione

Uno dei fattori chiave per ottenere il successo a lungo termine degli impianti dentali è il mantenimento della salute dei tessuti perimplantari. Sebbene sia chiaro che molteplici fattori possano contribuire al fallimento degli impianti, un numero sostanziale di studi punta l'attenzione sull'effetto negativo del biofilm orale sull'integrità strutturale dei tessuti perimplantari duri e molli che li circondano. È stata dimostrata un'inequivocabile associazione tra accumulo di placca e sviluppo di alterazioni infiammatorie (Heitz-Mayfield & Lang 2010). La persistenza della condizione infettivo-infiammatoria può portare alla distruzione progressiva dell'osso perimplantare e, in ultimo, al fallimento degli impianti.

Il termine “malattia perimplantare” è stato introdotto per descrivere i processi infiammatori nei tessuti duri e molli che circondano un impianto, ossia la mucosite perimplantare e la perimplantite (Albrektsson & Isidor 1996; Lang & Berglundh 2011). La *mucosite perimplantare* è definita come una lesione infiammatoria che risiede nella mucosa perimplantare, mentre la *perimplantite* interessa anche l'osso di supporto intorno agli impianti (Lindhe & Meyle, 2008).

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Il parametro chiave per la diagnosi di mucosite è la presenza di sanguinamento conseguente a un sondaggio delicato (con una forza <0.25 N). Analogamente alla gengivite, la mucosite perimplantare ha carattere reversibile ma, se non trattata, può evolvere in perimplantite. Dal momento che si tratta di una condizione clinica caratterizzata da cambiamenti dei livelli ossei in associazione al sanguinamento al sondaggio, la diagnosi di perimplantite richiede il rilevamento sia del sanguinamento al sondaggio che della perdita d'osso tramite radiografie endorali periapicali.

Sebbene in letteratura siano presenti numerosi studi sulla prevalenza della perimplantite, i dati riguardo tale parametro sono ancora insufficienti. Una recente revisione sistematica (Derks e Tomasi, 2015) che ha incluso 11 studi, ha riportato un tasso di prevalenza pari al 43% per la mucosite (range: 19% - 65%) e al 20% per la perimplantite (range: 1% - 47%). Tale risultato va però interpretato con cautela dal momento che, come riportato da Sanz & Chapple (2012) e Derks et al. (2012), uno dei maggiori limiti degli studi presenti in letteratura è la disomogeneità nei criteri di definizione di perimplantite. Risulta evidente, infatti, come il livello della soglia di perdita ossea utilizzata nella definizione di perimplantite influenzi i risultati sulla prevalenza della patologia. Per tale motivo, un consensus report dell'VIII European Workshop on Periodontology ha raccomandato che per i futuri studi epidemiologici, in assenza di precedenti radiografie, la soglia di perdita ossea indicativa di perimplantite deve essere pari a una distanza verticale di 2 mm dal margine della cresta ossea in seguito al rimodellamento che si verifica dopo l'inserimento implantare.

Una recente meta-analisi (Rakic et al. 2017) ha incluso soltanto studi che hanno adottato le definizioni suggerite da Sanz & Chapple (2012) e ha riportato una prevalenza pari al 18,5%. In uno studio cross-sectional retrospettivo, Derks et al. (2016) hanno riportato una prevalenza di perimplantite del 45%, dove la perimplantite veniva individuata in presenza di sanguinamento al sondaggio/suppurazione e perdita ossea $>0,5$ mm. Considerando soltanto i pazienti con forme moderate/severe di perimplantite, ovvero con una perdita ossea >2 mm, la prevalenza risultava pari al 14,5%.

L'obiettivo del presente studio è quello di fornire dati relativamente alla prevalenza della malattia perimplantare in un campione di pazienti in terapia di mantenimento reclutati nell'ambito di una struttura universitaria. Inoltre, lo studio si propone di valutare l'associazione tra le variabili analizzate, sia a livello impianto che paziente, con la perimplantite al fine di identificare eventuali indicatori di rischio.

Materiali e metodi

Disegno dello studio

Il lavoro presentato è uno studio cross-sectional monocentrico, condotto in conformità alle Norme di Buona Pratica Clinica dell'Unione Europea e alla revisione corrente della Dichiarazione di Helsinki ed approvato dal Comitato Etico dell'Università Vita-Salute San Raffaele (Milano) con n° protocollo “1 cross sec” in data 3/3/2016 (EC Reg. N. 31/INT/2016).

Il reclutamento dei pazienti è stato effettuato presso il reparto d'Igiene Orale e Prevenzione dell'IRCCS Ospedale San Raffaele (Milano) nel periodo compreso tra giugno 2016 e dicembre 2017.

Sono stati inclusi tutti i soggetti di età >18 anni con uno, o più impianti, con almeno 1 anno di follow-up dal carico protesico. Sono stati esclusi dallo studio: 1) i pazienti con malattie sistemiche non controllate (diabete [HbA1c >7], osteoporosi); 2) i pazienti in terapia con

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

farmaci con un possibile effetto sul turnover dell'osso e sulla guarigione delle ferite (steroidi);
3) le donne in gravidanza o in allattamento.

Raccolta dei dati clinici

I soggetti includibili sono stati invitati a partecipare allo studio durante il corso della seduta di mantenimento. Prima di procedere alla raccolta dei dati, ad ogni paziente sono state fornite informazioni dettagliate sul protocollo di ricerca ed è stata richiesta la firma del consenso informato.

Ogni paziente è stato sottoposto a un controllo per la verifica del livello di igiene orale (full mouth plaque score, FMPS) e di infiammazione dei tessuti (full mouth bleeding score, FMBS) e a un esame clinico perimplantare completo. L'esame clinico ha previsto la valutazione dei seguenti parametri:

- profondità di sondaggio (PPD) su 6 siti per impianto (DV, V, MV, ML/MP, L/P, DL/DP), espressa in mm (è stato registrato il valore più alto);
- indice di placca (PI) su 6 siti per impianto, mediante rilevazione dicotomica: alla presenza visibile di placca è stato attribuito il valore 1, all'assenza il valore 0;
- sanguinamento al sondaggio (BoP) su 6 siti per impianto, mediante rilevazione dicotomica;
- essudato, mediante rilevazione dicotomica;
- mobilità, mediante rilevazione dicotomica;
- presenza di tessuto cheratinizzato, mediante rilevazione dicotomica: alla presenza di almeno 1 mm di tessuto è stato attribuito il valore 1, all'assenza il valore 0.

Sono state raccolte informazioni su: 1) fattori socio-demografici e sullo stile di vita (età, sesso, n° sigarette/die), 2) frequenza delle sedute di mantenimento (n° sedute/anno).

A seguire, la seconda fase dello studio ha previsto l'esame delle cartelle cliniche dei pazienti al fine di ottenere dati riguardanti: 1) n° di anni di follow-up dal carico protesico, 2) tipologia di superficie implantare, 3) diametro dell'impianto, 4) caratteristiche del manufatto protesico: fisso/rimovibile, cementato/avvitato, corona singola/ponte/protesi ortopedica, 5) procedure di aumento osseo contestuali o precedenti all'inserimento implantare.

Raccolta dei dati radiografici

Gli impianti che presentavano almeno un sito con sanguinamento al sondaggio e/o suppurazione e/o una profondità di sondaggio superiore ai 4 mm, sono stati valutati con radiografie endorali digitali (Digora Optime; Soredex/Orion Corporation, Helsinki, Finland) eseguite con tecnica parallela a cono lungo e centratore di Rinn.

Le misurazioni sulle radiografie endorali sono state eseguite mediante l'uso di un software dedicato (ImageJ 1.48a; Wayne Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). Due esaminatori indipendenti (MDM e GLDD) hanno misurato con un cursore, su un monitor con ingrandimento del 200%, la distanza tra la piattaforma implantare e il livello osseo più coronale ritenuto essere in contatto con la superficie implantare. Il cursore è stato calibrato su ogni radiografia utilizzando le dimensioni dei sensori radiografici utilizzati.

Dal momento che ogni modello implantare è caratterizzato da un design macroscopico differente, sono stati identificati punti di repere per ognuno di essi. Nei casi in cui è risultato impossibile identificare la tipologia di superficie implantare, è stata misurata la distanza verticale a partire dalla prima spira.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Al fine di minimizzare l'acquisizione di misurazioni distorte, ogni misurazione è stata rilevata secondo un asse parallelo all'asse maggiore dell'impianto, tangenzialmente ai margini mesiale e distale dell'impianto in esame. Per ogni impianto è stato preso in considerazione soltanto il valore più elevato tra le due misurazioni.

Per valutare il grado di errore nelle misurazioni, sono state selezionate 20 radiografie endorali in modo casuale e sono state misurate dai due esaminatori due volte, ripetendo la misurazione a distanza di una settimana. Per verificare la riproducibilità inter- ed intra-esaminatori sono stati eseguiti un t-test per campioni appaiati e un test di correlazione di Pearson che hanno riportato che le differenze non erano statisticamente significative ($p > 0.05$).

Definizioni adottate

Sulla base dei dati riportati in letteratura (Sanz & Chapple, 2012) sono state identificate le seguenti condizioni cliniche:

- salute dei tessuti perimplantari: assenza di BoP;
- mucosite perimplantare: presenza di BoP e/o essudato con perdita ossea radiografica $< 2\text{mm}$;
- perimplantite: presenza di BoP e/o essudato con perdita ossea radiografica $\geq 2\text{mm}$, in associazione o meno a PPD > 4 .

Analisi statistica

Tutte le informazioni raccolte sono state registrate secondo una scheda di raccolta dati definita a priori e successivamente inserite in un apposito database (Microsoft Excel; Microsoft Corporation, WA, USA), al fine di ottenere un archivio omogeneo dei dati clinici e socio-demografici dei pazienti reclutati. L'analisi statistica dei dati raccolti è stata condotta mediante uso del software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences; SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

L'analisi ha compreso la valutazione delle caratteristiche metriche delle variabili continue (media e deviazione standard) e delle frequenze assolute e percentuali delle variabili categoriche.

L'estensione della perimplantite, definita come il numero di impianti affetti nei pazienti che presentano tale patologia, è stata valutata nei soggetti con > 1 impianto. La severità è stata espressa in relazione ai vari gradi di perdita ossea perimplantare.

Modelli di regressione logistica uni- e multivariata sono stati utilizzati per determinare i fattori associati alla perimplantite. La presenza/assenza di perimplantite è stata usata come variabile dipendente. A livello paziente sono stati considerati: fattori socio-demografici (età, sesso), fumo (si/no, n° di sigarette/die: 0, < 10 , ≥ 10), n° di impianti (< 4 , ≥ 4), indici parodontali (FMPS, FMBS), n° di sedute di mantenimento svolte in un anno (≤ 2 , > 2), compliance (si/no). A livello impianto, invece, sono stati analizzati alcuni parametri clinici (presenza di tasche $> 4\text{mm}$, presenza di placca, presenza $> 1\text{mm}$ di tessuto cheratinizzato), tipo di edentulia, sede dell'impianto (mandibola/mascellare, settori anteriori/posteriori), caratteristiche del manufatto protesico (fisso/rimovibile, cementato/avvitato). Le variabili che hanno mostrato un $p < 0.05$ sono state selezionate per l'analisi multivariata. Per escludere eventuali confondimenti dovuti all'età e al sesso, le due variabili sono state scelte come controllo e incluse nel modello di analisi multivariata.

I dati sono stati espressi come odds ratio crudi e aggiustati con i relativi intervalli di confidenza al 95%. Valori di p -value < 0.05 sono stati considerati statisticamente significativi.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Risultati

Descrizione del campione

Nel periodo giugno 2016 – dicembre 2017, 1710 pazienti sono stati visitati nel reparto d'Igiene Orale e Prevenzione dell'IRCCS Ospedale San Raffaele per una seduta di mantenimento dell'igiene orale.

Un totale di 237 pazienti (110 uomini e 127 donne) sono stati inclusi nello studio e valutati clinicamente. L'età media del campione è 59.51 anni (SD 9.5), con un range compreso tra 34 e 86 anni. I pazienti presentavano un totale di 831 impianti: di questi, 420 posizionati nel mascellare superiore e 411 nella mandibola. La presenza di sanguinamento al sondaggio/suppurazione è stata registrata in 458 impianti, la presenza di tasche con PPD>4mm è stata riportata per 304 impianti.

L'esame radiografico è stato svolto per 175 pazienti per un totale di 508 impianti. La media di perdita ossea registrata è stata 1.58 ± 1.63 mm.

Nella *tabella 1* e *2* sono riportate le statistiche descrittive delle variabili analizzate.

Tabella 1 Variabili analizzate a livello paziente

	Pazienti (n=237)	
	n	%
Sesso		
Maschi	110	46.4
Femmine	127	53.6
Fumo		
0	201	84.8
<10	14	5.9
≥10	22	9.3
FMPS		
0-25	109	46
>25	128	54
FMBS		
0-25	219	75.5
>25	18	24.5
Malattia parodontale		
Si	179	75.5
No	58	24.5
N° di impianti		
1-3	146	61.6
≥4	91	38.4
Frequenza di mantenimento		
2	71	30
>2	166	70
Compliance		
Si	193	81.4
No	44	18.6

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Tabella 2 Variabili analizzate a livello impianto

	Impianti (n=831)	
	n	%
PPD		
≤4	527	63.4
>4	304	36.6
Placca		
No	315	37.9
Si	516	62.1
Tessuto chratinizzato		
No	272	32.7
Si	559	67.3
Osso		
Mascellare	420	50.5
Mandibola	411	49.5
Posizione		
Anteriore (canino-canino)	164	19.7
Posteriore	667	80.3
Tipo di edentulia		
Totale	150	17.1
Parziale	723	82.6
Tipo di ritenzione		
Avvitata	129	16.4
Cementata	695	83.6
Tipo di protesi		
Fissa	812	97.7
Rimovibile	19	2.3

Prevalenza

Dall'analisi dei 237 pazienti è emerso che il 26.2% (n=62) non mostra segni di malattia perimplantare; il 38.8% (n=92) mostra segni di mucosite e il restante 35% (n=83) presenta perimplantite (Tabella 3). I valori corrispondenti per l'analisi a livello impianto sono 45.2% (n=376), 37.6% (n=313) e 17.1% (n=142), rispettivamente (Tabella 3).

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Tabella 3 Prevalenza della malattia perimplantare a livello paziente e impianto

	Pazienti (n=237)		Impianti (n=831)	
	% (n)	PPD>4mm, % (n)	% (n)	PPD>4mm, % (n)
Salute perimplantare	26.2 (62)	19.3 (12)	45.2 (376)	15.7 (59)
Mucosite perimplantare	38.8 (92)	58.6 (54)	37.7 (313)	52.7 (165)
Perimplantite				
≥2 mm	35 (83)	78.3 (65)	17.1 (142)	56.3 (80)
>3 mm	22 (52)	84.6 (44)	8.8 (73)	52 (38)
>4 mm	11.4 (27)	81.5 (22)	3.7 (31)	22.6 (7)
>5 mm	10.5 (25)	52 (13)	2 (17)	53 (9)

Estensione

La perimplantite è stata osservata in 72 dei 178 pazienti con 2 o più impianti. Il numero medio di impianti per paziente in questo gruppo è 4.9 ± 2.52 , quello di impianti con segni di perimplantite è 1.87 ± 1.3 . Pertanto, l'estensione degli impianti con perimplantite è 38.2%.

Severità

La perdita ossea media nel gruppo dei 142 impianti con perimplantite è pari a $3.45 \pm 1,50$ mm. Il valore corrispondente per i 313 impianti con segni di mucosite perimplantare è 0.72 ± 0.68 mm.

Indicatori di rischio

La Tabella 4 mostra gli OR crudi per i possibili fattori associati al rischio di perimplantite a livello paziente. Né l'età né il sesso risultano essere fattori associati alla patologia. Il fumo, il numero di impianti e il n° di sedute di mantenimento/anno sono le variabili significativamente associate al rischio di malattia ($p < 0.01$). In particolare i soggetti che fumano >10 sigarette al giorno mostrano un rischio aumentato di 3.02 di avere perimplantite rispetto ai non fumatori. Analogamente i soggetti con numero di impianti superiore a 4 (OR 3.26, $p < 0.001$) e quelli che svolgono 2 sedute di mantenimento all'anno (OR 3.67, $p = 0.003$). Quando valutate insieme a età e sesso nel modello di regressione logistica multivariata (Tabella 5), l'associazione tra fumo e perimplantite risulta attenuata e perde la sua significatività statistica (OR 1.92, $p = 0.846$). Le altre variabili, invece, risultano avere un effetto leggermente attenuato ma pur sempre statisticamente significativo ($p < 0.01$).

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Tabella 4 Regressione logistica univariata con variabili a livello paziente (variabile dipendente: presenza/assenza di perimplantite)

		OR	IC 95%	p-value
Sesso	Femmine	1.12	0.66-1.91	0.68
Età		1.01	0.99-1.05	0.23
Fumo	Si	2.09	1.02-4.29	0.04*
	0 vs <10	1.16	0.37-3.6	0.79
	0 vs >10	3.02	1.23-7.43	0.016*
	<10 vs ≥10	0.38	0.96-1.54	0.176
FMPS	>25	1.005	0.99-1.02	0.471
FMBS	>25	2.5	0.95-6.6	0.06
N° impianti	≥4	3.26	1.87-5.69	<0.001*
N° sedute di mantenimento	≤2	3.67	1.83-7.34	<0.001*
Compliance	No	0.82	0.42-1.62	0.578

Tabella 5 Regressione logistica multivariata con variabili a livello paziente (variabile dipendente: presenza/assenza di perimplantite)

		OR	IC 95%	p-value
Sesso	Femmine	0,95	0.55-1.75	0.946
Età		0.993	0.96-1.03	0.659
Fumo	Si	1.82	0.83-3.95	0.13
N° di impianti	≥4	3.01	1.57-5.24	<0.001*
N° sedute di mantenimento	≤2	3.41	1.65-7.03	0.001*

presenza/assenza di perimplantite)

La Tabella 6 riassume gli OR crudi per i fattori associati al rischio di perimplantite a livello impianto. Alcune variabili quali diametro e superficie implantare, n° anni di follow-up dal carico protesico e la presenza di procedure di aumento osseo non sono state inserite nel modello di analisi, dal momento che non è stato possibile raccogliere tali informazioni per l'intero campione. I fattori risultati significativamente associati al rischio di malattia sono la profondità di tasca al sondaggio, la presenza di placca e l'assenza di tessuto cheratinizzato. In particolare, gli impianti con almeno un sito con PPD > 4mm, con presenza di placca in corrispondenza di almeno un sito e l'assenza di almeno 1 mm di tessuto cheratinizzato mostrano un rischio aumentato rispettivamente di 2.68, 2.18 e 2.26 ($p < 0.001$). L'analisi di regressione logistica multivariata (Tabella 7) ha confermato le tre variabili come indicatori di rischio per la perimplantite ($p < 0.001$).

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Tabella 6 Regressione logistica univariata con variabili a livello impianto (variabile dipendente: presenza/assenza di perimplantite)

		OR	IC 95%	p-value
PPD	>4	2.68	1.85-3.87	<0.001*
Placca	Si	2.18	1.45-3.31	<0.001*
KT	No	2.26	1.57-3.27	<0.001*
Osso	Mandibola	0.93	0.56-1.33	0.681
Posizione	Posteriore	0.77	0.50-1.19	0.25
Tipo di edentulia	Parziale	1.01	0.63-1.63	0.957
Tipo di ritenzione	Cementata	1.27	0.15-10.7	0.821
Tipo di protesi	Rimovibile	0.56	0.13-2.47	0.448

Tabella 7 Regressione logistica multivariata con variabili a livello impianto (variabile dipendente: presenza/assenza di perimplantite)

		OR	IC 95%	p-value
PPD	>4	2.37	1.63-3.45	<0.001*
Placca	Si	1.83	1.20-2.80	0.005*
KT	No	1.93	1.32-2.82	0.001*

Conclusioni

Il presente studio ha analizzato la prevalenza e gli indicatori di rischio della perimplantite in un campione di pazienti in terapia di mantenimento reclutati in una clinica universitaria in Italia (Milano).

Dallo studio è emerso che il 73.8% del campione analizzato è affetto da malattia perimplantare. In particolare, il 35% dei pazienti mostra segni di mucosite, mentre il 38.8% presenta perimplantite.

È difficile confrontare tali dati con quelli pubblicati in letteratura a causa della variabilità della definizione di malattia perimplantare e delle differenze metodologiche tra i vari studi. Risulta evidente che il livello soglia di perdita ossea influenza fortemente i risultati sulla prevalenza di malattia perimplantare, pertanto i risultati del presente studio devono essere valutati in relazione alle definizioni considerate. Roos-Jansaker et al. (2006) hanno condotto uno studio su 216 pazienti trattati con impianti con 9-14 anni di follow-up, riportando che il 16% aveva la perimplantite, definita come perdita ossea ≥ 1.8 mm rispetto ai dati a un anno in associazione al BoP. Koldslund et al. (2010) in uno studio di prevalenza in un gruppo di 109 pazienti hanno utilizzato soglie di perdita ossea di 0.4 mm, 2 mm e 3 mm, riportando rispettivamente che il 47.1%, il 20.7% e l'11.7% dei pazienti ha mostrato perimplantite. Soglie elevate per la perdita ossea sono state applicate anche nello studio prospettico di Rocuzzo et al. (2010) su 101 pazienti con impianti, che ha riportato che il 22.8% dei pazienti mostrava una perdita ossea ≥ 3 mm.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Nel presente studio l'estensione della perimplantite è risultata pari al 17.2%. Se si considerano i soli impianti con perimplantite grave (perdita ossea >5mm) la percentuale si riduce al 2.2%. Pochi studi in letteratura riportano dati al riguardo. Fransson et al. (2009) e Mir-Mari et al. (2012) hanno indicato rispettivamente che il 41.8% e il 37.2% degli impianti di soggetti affetti presentava perimplantite. Derks et al. (2015) hanno riportato che il 40.1% degli impianti del campione con perimplantite analizzato nel loro studio prospettico presenta una forma moderata/grave di perimplantite (definita come perdita ossea >2mm).

Il secondo obiettivo del presente studio è stato investigare la presenza di indicatori di rischio per la perimplantite.

Il fumo è stato associato alla presenza di perimplantite in diversi studi. Nel presente lavoro, l'analisi univariata ha identificato il fumo come indicatore di rischio, in quella multivariata però tale associazione ha perso la sua significatività statistica. Un risultato analogo è stato riportato da Derks et al. (2016).

I pazienti con 4 o più impianti presentano un'associazione statisticamente significativa con la perimplantite. Tale risultato è stato riportato anche da altri studi (Roos-Jansaker, Renvert et al. 2006; Koldslund et al. 2011; Rocuzzo et al. 2012; Renvert et al. 2014; Derks et al. 2016). Ciò potrebbe trovare spiegazione nel fatto che la presenza di un numero elevato di impianti potrebbe fornire un numero maggiore di siti per l'accumulo di placca ed aumentare di conseguenza il rischio di infezione perimplantare. Tale dato è in accordo con il risultato che ha evidenziato che i siti implantari con PPD > 4mm mostrano un rischio maggiore rispetto a quelli con profondità di sondaggio inferiore. Come riportato nello studio cross-sectional di Merli et al. (2017), per ogni 1 mm di aumento della profondità di sondaggio perimplantare aumenta di 1.81 il rischio di avere sanguinamento al sondaggio in quel sito. Del resto all'interno di una tasca profonda, i patogeni risiedono in un ambiente strettamente anaerobico che può compromettere i meccanismi di difesa dell'ospite e portare allo sviluppo di una popolazione microbica capace di sfuggire alle difese e causare distruzione tissutale (Socransky et al. 1998; Demmer et al. 2008).

Uno dei risultati più interessanti emersi dall'analisi dei dati è stata l'associazione statisticamente significativa tra assenza di mucosa cheratinizzata e presenza di perimplantite. Ad oggi, in letteratura non sono ancora disponibili dati certi circa l'influenza che la presenza di tessuto cheratinizzato possa avere sulla salute dei tessuti perimplantari. I nostri risultati sono in contrasto con quelli emersi in uno studio prospettico di Roos-Jansaker et al. (2006b) che ha valutato 218 pazienti trattati con impianti in titanio. Gli autori non hanno evidenziato alcuna associazione tra assenza di mucosa cheratinizzata e malattia perimplantare; al contrario hanno riportato che la presenza di tessuto cheratinizzato è associata con la mucosite perimplantare (definita come presenza di PPD>4 mm e BoP). Tale risultato è stato spiegato con l'ipotesi che a livello dei siti con assenza di KT sono più frequenti le recessioni, e quindi una minore tendenza alla formazione di tasche.

D'altro canto però, i dati presentati sono in accordo con quelli di un recente studio prospettico di Rocuzzo et al. (2015) che ha rilevato come gli impianti con assenza di mucosa cheratinizzata, posizionati nei settori posteriori della mandibola, sono più suscettibili ad accumulo di placca e recessioni. Infatti, nel nostro studio si evince che il 73.2% degli impianti privi di mucosa cheratinizzata presenta almeno un sito con accumulo di placca contro il 58.7% di quelli con tessuto cheratinizzato. Tale osservazione non esclude la possibilità che la salute perimplantare possa essere preservata a lungo anche in assenza di KT, ma conferma che adeguate procedure di igiene orale sono facilitate in quei siti dove il tessuto cheratinizzato è presente (Lang et al. 1999). Una delle più recenti revisioni sistematiche su questo tema

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

(Wennstrom & Derks, 2012) ha indicato che l'assenza di un'adeguata altezza di tessuto cheratinizzato è risultata essere associata a un maggior accumulo di placca e presenza di sanguinamento al sondaggio intorno agli impianti. Al contrario, non c'è ancora evidenza di un possibile effetto sulla perdita ossea perimplantare. Si può pertanto concludere che sono necessari ulteriori studi randomizzati e controllati per supportare questi dati.

Sebbene in letteratura sia riportato che una protesi cementata aumenti il rischio di perimplantite a causa della presenza di residui di cemento all'interno del solco perimplantare (Linkevicius et al, 2013; Dalago et al, 2017), i risultati del presente studio non hanno evidenziato tale associazione. Ciò potrebbe essere spiegato con la disomogenea distribuzione del numero di protesi cementate e quelle avvitate all'interno del campione in esame (rispettivamente, 84% vs 16%).

Nel presente lavoro la valutazione della perdita ossea radiografica è stata effettuata in assenza di confronto con una radiografia allo stato basale (carico protesico). Ciò rappresenta uno dei principali limiti, dal momento che non ha permesso di valutare la progressione della perdita ossea perimplantare nel tempo. Inoltre, bisogna considerare che alcuni parametri relativi alle caratteristiche implantari (diametro, tipo di superficie, follow-up dal carico protesico) non sono stati valutati come fattori di rischio poiché non è stato possibile reperire tali informazioni per l'intero campione. Inoltre, in letteratura è stato osservato che l'operatore può essere un indicatore di rischio di perimplantite. Pertanto, un ulteriore limite da considerare è la mancanza di dati relativi ai diversi clinici che hanno eseguito la chirurgia implantare e la successiva fase protesica.

In conclusione, ad oggi non sono ancora disponibili dati epidemiologici certi sulla prevalenza della perimplantite. Tuttavia, l'identificazione dei fattori di rischio risulta essere un prerequisito fondamentale per mettere in atto le adeguate misure preventive e terapeutiche. Pertanto ulteriori studi si rendono necessari per valutare se e come la presenza di alcuni fattori locali e relativi al paziente possano contribuire alla perdita ossea perimplantare.

Bibliografia

1. Albrektsson & Isidor (1996) Consensus Report Implant Therapy I. *Annals of Periodontology*, 1: 792-795.
2. Dalago HR, Schuldt Filho G, Rodrigues MAP, Renvert S, Bianchini MA. (2017) Risk Indicators for Peri-implantitis. A cross-sectional study with 916 implants. *Clin. Oral Impl. Res.* 28, 144-150
3. Daubert DM, Weinstein BF, Bordin S, Leroux BG, Flemming TF. 2015. Prevalence and predictive factors for peri-implant disease and implant failure: a cross-sectional analysis. *J Periodontol.* 86(3):337-347.
4. Demmer RT, Papapanou PN, Jacobs DR Jr, Desvarieux M. (2008) Bleeding on probing differentially relates to bacterial profiles: the Oral Infections and Vascular Disease Epidemiology Study. *Journal of Clinical Periodontology* 35: 479-486.
5. Derks J, Tomasi C (2015) Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *J Clin Periodontol* 42(Suppl 16):S158-S171.
6. Derks J, Schaller D, Håkansson J, Wennström JL, Tomasi C, Berglundh T (2016) Effectiveness of implant therapy analyzed in a Swedish population prevalence of peri-implantitis. *J Dent Res* 95(1):43-49
7. Fransson C, Wennstrom JL, Tomasi C, Berglundh T. (2009) Extent of peri-implantitis-associated bone loss. *J Clin Periodontol.* 36(4):357-363.
8. Heitz-Mayfield LJA (2008) Peri-implant diseases, diagnosis and risk indicators. *Journal of Clinical Periodontology* 35 (Suppl. 8), 292-304.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

9. Koldslund OC, Scheie AA, Aass AM. (2010) Prevalence of peri-implantitis related to severity of the disease with different degrees of bone loss. *J Periodontol*, Vol. 81(2), p. 231-8.
10. Lang NP, Karring T, Lindhe J. (1999) Proceedings of the Third European Workshop on Periodontology- Implant Dentistry. Chicago, IL: Quintessence.
11. Lang NP, Berglundh T (2011) Periimplant diseases: where are we now?–Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology* 38(Suppl. 11), 178–181.
12. Lindhe J, Meyle J (2008) Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology* 35(Suppl. 8), 282–285.
13. Linkevicius T, Puisys A, Vindasiute E, Linkeviciene L, Apse P. (2013) Does residual cement around implant-supported restorations cause peri- implant disease? A retrospective case analysis. *Clinical Oral Implants Research* 24: 1179–1184.
14. Merli M, Bernardelli F, Giulianelli E, Toselli I, Mariotti G, Nieri M. Peri-implant bleeding on probing: a cross-sectional multilevel analysis of associated factors. *Clin. Oral Impl. Res.* 28, 2017, 1401–1405
15. Mir-Mari J, Mir-Orfila P, Figueiredo R, Valmaseda-Castello E, Gay-Escoda C. (2012) Prevalence of peri-implant diseases. A cross-sectional study based on a private practice environment. *Journal of Clinical Periodontology* 39, 490–494.
16. Rakic M, Galindo-Moreno P, Monje A, Radovanovic S, Wang HL, Cochran D, Sculean A, Canullo L. (2017) How frequent does peri-implantitis occur? A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig.*
17. Renvert S, Aghazadeh A, Hallström H, Persson GR. (2014) Factors related to peri-implantitis: a retrospective study. *Clin Oral Implants Res.* 25(4):522– 529.
18. Rocuzzo M, De Angelis N, Bonino L, Aglietta M. (2010) Ten-year results of a three-arm prospective cohort study on implants in periodontally compromised patients. Part 1: implant loss and radiographic bone loss. *Clin Oral Implants Res*, Vol. 21(5), p. 490-6.
19. Rocuzzo M, Grasso G, Dalmasso P (2015) Keratinized mucosa around implants in partially edentulous posterior mandible: 10-year results of a prospective comparative study. *Clin Oral Implants Res* 00, 2015, 1–6
20. Roos-Jansaker AM, Lindahl C, Renvert H, Renvert S. (2006a) Nine- to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part I: implant loss and associations to various factors. *J Clin Periodontol*, Vol. 33, p. 283-9.
21. Sanz M, Chapple IL (2012) Working Group 4 of the VIII European Workshop on Periodontology. Clinical research on peri-implant diseases: consensus report of Working Group 4. *J Clin Periodontol.* 39 Suppl 12:202–206.
22. Salvi GE, Lang NP (2004) Diagnostic parameters for monitoring peri-implant conditions. *Int J Oral Maxillofac Implants* 19(Suppl): 116–127
23. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. (1998) Microbial complexes in subgingival plaque. *Journal of Clinical Periodontology* 25: 134–144.
24. Wennstrom JL, Derks J. (2012) Is there a need for keratinized mucosa around implants to maintain health and tissue stability? *Clin Oral Implants Res.* 23 Suppl 6:136-46.
25. Tomasi C, Derk J. (2012) Clinical research of peri-implant diseases – quality of reporting, case definitions and methods to study incidence, prevalence and risk factors of peri-implant diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 39(Suppl. 12), 207–223.

CARATTERIZZAZIONE METAGENOMICA DEL MICROBIOMA PERI-IMPLANTARE: VERSO UNA NUOVA DEFINIZIONE DEI MICRORGANISMI ASSOCIATI A MUCOSITE E PERI-IMPLANTITE

Paolo Ghensi*, **Paolo Manghi***, **Moreno Zolfo***, **Edoardo Pasoli***, **Federica Armanini***, **Alberto Bertelle****, **Federico Dell'Acqua*****, **Ester Dellasega******, **Romina Waldner*******, **Claudio Soldini*******, **Cristiano Tomasi*******, **Nicola Segata***

** CIBIO (Centre for Integrative Biology), University of Trento, Trento, Italy; ** Private Practice, Trento; *** Private Practice, Pergine Valsugana; **** Private Practice, Cavalese; ***** Consultant, Trento; ***** Department of Neurosciences, University of Padova, Padova; ***** Department of Periodontology, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden*

Abstract

Mucositis affects 50% to 90% of implants, while the prevalence of peri-implantitis ranges from 15 to 23%.

The etiology of peri-implant diseases is connected with several factors, with microbial colonization being one of the most relevant. A thorough profiling of the microorganisms associated with these diseases is thus the first step to undertake in order to develop novel prevention and therapeutic strategies. Available studies, however, adopted study designs which are not accounting for inter-subject variability, focused on few cultivable microbes, or used low-resolution microbial profiling. We recruited a large cohort of healthy/mucositis/peri-implantitis patients sampled longitudinally and with both healthy and intra-subject controls (contralateral implants/teeth). We applied high resolution shotgun metagenomics to sequence the genetic material of the entire ecosystem of microorganisms - the microbiome - present in the subgingival environment. Metagenomic profiles highlighted a very distinctive microbial signature associated with peri-implantitis implants as compared to healthy controls. Moreover there were no substantial differences between healthy contralateral controls and healthy implants in patients not affected by disease. This indicates peri-implantitis is, microbiologically, a site-specific rather than a patient-specific disease. Overall our work points at the very high potential of metagenomics and the plaque microbiome as a prognostic and predictive clinical approach for peri-implantitis.

Riassunto

La mucosite affligge dal 50 al 90% degli impianti, mentre la prevalenza della peri-implantite varia dal 15 al 23 %.

L'ipotesi alla base del nostro studio è che l'eziologia delle malattie peri-implantari sia collegata a una combinazione di diversi fattori, con la colonizzazione microbica tra i più rilevanti. Una caratterizzazione accurata dei microrganismi associati a tali malattie è quindi il primo passo da compiere per sviluppare nuove strategie preventive e terapeutiche. Gli studi disponibili, tuttavia, hanno adottato disegni di studio che non tengono conto della variabilità tra soggetti, focalizzandosi su pochi microrganismi coltivabili o utilizzando tecniche di caratterizzazione a bassa risoluzione.

Nel nostro studio abbiamo reclutato un'ampia coorte di pazienti sani, con mucosite e con peri-implantite sottoposti a prelievo microbiologico longitudinale e con controlli sani intra-soggetto (impianti/denti controlaterali). Abbiamo impiegato tecniche metagenomiche ad alta risoluzione di tipo shotgun per sequenziare il materiale genetico dell'intero ecosistema di microrganismi - il microbioma - presente nell'ambiente sottogengivale. I profili metagenomici

hanno evidenziato un tratto microbico distintivo associato agli impianti interessati dalla peri-implantite rispetto ai controlli sani. Inoltre non ci sono state differenze sostanziali tra controlli controlaterali sani e impianti sani in pazienti non affetti da malattia. Ciò indica che la peri-implantite è, da un punto di vista microbiologico, una malattia sito-specifica piuttosto che paziente-specifica. Nel complesso, il nostro lavoro punta sull'alto potenziale della metagenomica e sul microbioma della placca come approccio clinico prognostico e predittivo per la peri-implantite.

Introduzione

Mucosite e peri-implantite rappresentano serie complicanze dopo il trattamento implantare e negli ultimi tre decenni si è assistito ad una progressiva diffusione di queste due “nuove” patologie orali. Gli studi indicano che la mucosite affligge dal 50% al 90% degli impianti, mentre la prevalenza della peri-implantite è in continua crescita e varia dal 15 al 23% (1,2,3). Ciò significa che un quinto di tutti gli impianti dentali inseriti è affetto da una malattia, che nella maggior parte dei casi porta alla perdita diretta dell'impianto o comunque alla necessità di doverlo rimuovere (4).

L'eziologia precisa delle patologie peri-implantari rimane ancora non completamente nota. È appurato come la colonizzazione batterica giochi un ruolo fondamentale nell'eziologia di questa malattie, anche se permane ampio dibattito sul fatto che questa sia principalmente correlata a un problema di suscettibilità dell'ospite o a fenomeni legati alla superficie implantare o ad entrambi i fattori (5,6). Gli interventi terapeutici attuali, inoltre, si basano su un paradigma di somiglianza microbica con le malattie parodontali ma i risultati di queste terapie sono stati piuttosto modesti, con tassi di recidiva particolarmente elevati, suggerendo che la componente microbica potrebbe non essere così simile alla parodontite come precedentemente ritenuto (7,8). Sebbene alcuni patogeni parodontali noti possano essere associati anche all'eziologia della peri-implantite, è probabile che diversi microrganismi siano coinvolti in queste due condizioni così clinicamente distinte (9,10). Una caratterizzazione approfondita dei microrganismi associato alle malattie peri-implantari è quindi il primo passo da compiere per ipotizzare nuovi approcci di prevenzione e trattamento.

Indagini sui microrganismi coinvolti nelle principali malattie orali vengono eseguiti ormai da decenni, ma la recente rivoluzione nelle tecnologie per “leggere” il materiale genetico (DNA) delle comunità microbiche senza necessità della loro coltivazione ha rivoluzionato il settore (11). Tramite il sequenziamento diretto del materiale genetico presente in un campione orale (ad esempio un campione di placca sopragengivale o sottogengivale) è possibile studiare l'ecosistema di microorganismi batterici, virali, micro-eucariotici e arcaici - il cosiddetto microbioma - presente nell'ambiente dentale. Tali tecniche, chiamate metagenomiche, hanno il vantaggio fondamentale di evitare completamente la fase di coltivazione che richiede molto tempo e che può individuare con i protocolli di coltura noti solo una minima frazione di microrganismi realmente presenti (12). Ciò ha portato alla recente mappatura del microbioma in individui sani all'interno del più grande sforzo di sequenziamento metagenomico eseguito finora (Human Microbiome Project) ed ha fornito le basi per lo studio del microbioma nelle malattie orali (13).

Gli studi microbiologici attualmente disponibili sulle patologie peri-implantari, tuttavia, hanno adottato disegni di studio che non tengono conto della variabilità tra i vari soggetti e, a parte le tecniche molecolari “low throughput”, il metodo più avanzato per indagare e caratterizzare il microbioma peri-implantare fino ad oggi è stato unicamente attraverso tecniche di sequenziamento a bassa risoluzione di tipo 16S (14-20).

Diversamente, il nostro gruppo ha già dimostrato le potenzialità delle innovative tecniche metagenomiche computazionali di tipo “shotgun” per caratterizzare il microbioma orale ad altissima risoluzione (21), quindi ci proponiamo di indagare anche il microbioma peri-implantare sia in stato di salute che di malattia attraverso tali tecniche di sequenziamento. Le tecniche metagenomiche di tipo “shotgun” rappresentano lo strumento attualmente più all'avanguardia per lo studio del microbioma e sono state ampiamente impiegate e validate nel corso dello Human Microbiome Project (22). (Fig. 1)

La nostra ipotesi di fondo è che l'eziologia delle malattie peri-implantari sia collegata a una combinazione di diversi fattori, con la colonizzazione microbica tra i più rilevanti. Sulla base delle lezioni apprese dalla microbiologia, dall'epidemiologia microbica e dallo studio delle malattie parodontali (23,24), vi sono ragioni per ritenere che membri specifici della diversità microbica orale rappresentino un prerequisito per l'insorgenza e la progressione della malattia. Inoltre, ipotizziamo che i fattori microbici coinvolti nella peri-implantite potrebbero essere presenti nel microbioma orale dei soggetti ancora prima della manifestazione della malattia.

Quindi, nel nostro studio abbiamo studiato il microbioma della placca associato alla peri-implantite per identificare specifici organismi microbici, geni e fattori di virulenza associati a questa condizione con l'obiettivo finale di capire quale sia il ruolo dei microorganismi e dell'ecologia microbica nell'eziologia delle malattie peri-implantari. Il nostro innovativo disegno di studio longitudinale ha incluso pazienti sani, pazienti con mucosite e pazienti con peri-implantite. Il dente controlaterale sano rispetto all'impianto è stato anch'esso campionato per regolare l'elevata variabilità tra soggetti e per testare il microbioma della placca sottogengivale di denti sani in pazienti con malattia peri-implantare. Questo approccio non è mai stato utilizzato per studiare le malattie peri-implantari e potrebbe consentire di identificare biomarkers significativi per la malattia e nuovi potenziali approcci diagnostici e terapeutici.

Materiali e Metodi

Reclutamento pazienti

Questo studio è stato concepito presso il CIBIO (Centre for Integrative Biology) dell'Università di Trento, approvato dal comitato etico dell'Università di Trento (numero 2015-024) ed è stato condotto in conformità con le linee guida della Dichiarazione di Helsinki. Pazienti sottoposti a pregressa terapia implantare sono stati arruolati in sei diversi studi privati nella provincia di Trento (Italia) per questo progetto.

I criteri di inclusione comprendevano un buono stato di salute generale, età superiore ai 18 anni, non meno di 8 denti naturali residui, almeno un impianto orale funzionante riabilitato da almeno 1 anno, disponibilità a partecipare allo studio. I criteri di esclusione comprendevano la gravidanza, l'HIV, l'uso di farmaci immunosoppressori, bifosfonati o steroidi, l'uso di clorexidina nelle 2 settimane precedenti al prelievo, procedure profilattiche orali negli ultimi 3 mesi, l'assunzione di antibiotici sistemici o probiotici negli ultimi 6 mesi.

I pazienti sono stati selezionati nei diversi studi privati e sono stati inclusi in uno dei seguenti gruppi di studio in base allo stato di salute dei loro impianti dentali: a) Stato di salute (pazienti con almeno un impianto sano ma senza impianti con mucosite o peri -

implantite), b) Mucosite (pazienti con almeno un impianto con mucosite ma senza impianti con peri-implantite), c) Peri-implantite (Pazienti con almeno un impianto con peri-implantite).

La selezione e l'inclusione dei pazienti in uno dei gruppi si è basata sulla valutazione radiografica del livello dell'osso marginale, segni clinici di infiammazione e/o presenza di suppurazione secondo i criteri delineati dal Consensus Report sulle malattie peri-implantari (25).

Raccolta dati e esame clinico

Sei parodontologi esperti e calibrati hanno esaminato tutti i pazienti.

Sono stati registrati i parametri demografici di genere ed età e una anamnesi medica e dentale completa, seguita da un esame clinico parodontale e implantare di tutta la bocca.

L'anamnesi medica comprendeva informazioni su abitudine al fumo, diabete, malattie autoimmuni o altre malattie, consumo di alcol, farmaci assunti, mentre l'anamnesi dentale comprendeva informazioni sul numero di impianti, numero di denti residui, storia di parodontite, stato parodontale attuale, peri-implantite pregressa, frequenza di igiene orale domiciliare, ore dall'ultimo spazzolamento, uso di clorexidina. Parametri clinici inclusi sito di prelievo, diagnosi dell'età dell'impianto (tempo dall'installazione), sistema implantare utilizzato, tipo di riabilitazione, tipo di ritenzione (avvitata, cementata, conometrica), perdita ossea radiografica, ampiezza mucosa cheratinizzata (KM), indice di placca (PI), sanguinamento al sondaggio (BOP), profondità di sondaggio (PPD) e suppurazione (SUP). Gli ultimi quattro parametri sono stati misurati nei siti buccali, mesiali, linguali e distali di ciascun impianto e dente selezionato. PI, BOP e SUP sono stati registrati su una scala binaria (presenza / assenza) per ogni superficie e il PPD è stato misurato al millimetro più vicino sulla scala.

Raccolta dei campioni, estrazione del DNA e sequenziamento shotgun con Illumina

I campioni microbiologici sono stati prelevati in modo completamente non invasivo utilizzando un protocollo basato su quello validato e adottato nel corso dello Human Microbiome Project (HMP) (22). I campioni sono stati raccolti con repliche tecniche (2 campioni/ogni sito) da un singolo impianto e dal dente/impianto controlaterale sano (se presente, un impianto sano è stato preferito come sito sano controlaterale) per ciascun paziente in ciascun gruppo di studio.

I campioni sono stati raccolti al baseline (T0), dopo 1 mese (T1) e dopo 7 mesi (T2). Il prelievo T1 è stato eseguito esclusivamente nei gruppi Mucosite e Peri-implantite per valutare l'effetto del trattamento sul microbioma peri-implantare dopo 1 mese oltre che dopo 7 mesi.

I siti selezionati sono stati isolati usando rulli di cotone per prevenire la contaminazione con la saliva e delicatamente asciugati, e la placca sopragengivale è stata rimossa usando pellets di cotone sterili. I campioni di placca subgengivali sono stati prelevati dal sito di sondaggio più profondo con singole curettes di Gracey sterili e posizionati immediatamente in provette Eppendorf da 1,5 mL contenenti soluzione buffer SCF-1 sterile (50 mM Tris-HCl, pH 7,5; 1 mM EDTA, pH 8,0; 0,5% Tween-20) e congelate a -80 °C per analisi successive.

Il DNA genomico totale è stato isolato utilizzando il kit QIAamp DNA Mini (Qiagen, Hilden, Germania) con un'ulteriore fase di distruzione meccanica per la lisi completa

delle specie gram-positive e gram-negative. Il DNA isolato è stato conservato a -20 ° C. Ciascun metagenoma è stato quantificato e in caso di materiale sufficiente (> 1 ng) sono state preparate le librerie attraverso il kit DNA Nextera-XT (Illumina Inc, San Diego, USA) seguendo il protocollo del produttore. Le librerie sono state sequenziate (2x 100 bp) sulla piattaforma Illumina HiSeq-2000.

Sequenze, controllo qualità e sottocampionamento

I metagenomi grezzi generati sono stati elaborati con FastqMcf (26) tagliando le posizioni con qualità <15, rimuovendo letture di bassa qualità (qualità media <25) e scartando read più brevi di 90 nt. DNA umano e batteriofago phiX174 (Illumina spike-in) sono stati quindi rimossi usando BowTie2 (27) per mappare le read contro genomi di riferimento.

Profili tassonomici e funzionali

I campioni metagenomici sono stati tassonomicamente caratterizzati utilizzando MetaPhlAn 2 (28, 29) con impostazioni parametriche predefinite. MetaPhlAn è uno strumento che mappa le shotgun read rispetto a un database di marcatori specifici di specie ed è in grado di produrre una risoluzione a livello di specie e le abbondanze relative di ogni specie in un campione.

Per il profilo funzionale dei metagenomi è stato usato HUMAnN (30) (con impostazioni parametriche di default), che è basato su pathways e moduli KEGG. (31)

Analisi della diversità

Per garantire l'equità del confronto, la diversità alfa e beta sono stata calcolata su campioni spaiati a 50k read (dopo la rimozione del DNA umano) ciascuno. La ricchezza totale delle specie per ciascun campione è stata calcolata come il numero totale di specie identificate usando MetaPhlAn 2. Sono state calcolate la diversità tra metagenomi dello stesso individuo (diversità intra-beta) e tra individui (diversità inter-beta) usando la matrice di distanza Bray-Curtis. (33)

Analisi machine-learning

Classificazione random forest. È stata valutata la forza di predizione dei dati metagenomici nel collegare il microbioma peri-implantare allo stato di salute o di malattia. Questo compito è stato valutato attraverso un approccio classificativo di apprendimento automatico Random Forest (34) in cui sono state usate l'abbondanza delle specie o le caratteristiche funzionali per discriminare tra campioni sani e malati. (35)

L'intera analisi è stata condotta attraverso un approccio di cross-validation. In particolare, l'accuratezza della predizione è stata valutata mediante validazione incrociata 10 volte, ripetuta e calcolata su 20 esecuzioni indipendenti. Le prestazioni di classificazione sono state valutate in termini di AUC statistica.

Il framework del software utilizzato per questi esperimenti è disponibile online all'indirizzo <http://segatalab.cibio.unitn.it/tools/metaml>. (35)

Risultati

Coorte e caratteristiche cliniche dei pazienti

108 pazienti (55 maschi, 53 femmine, età media 61.9 ± 9.8 anni) che hanno contribuito con un impianto e un dente controlaterale (due impianti se anche il sito controlaterale sano era un impianto) per paziente sono stati arruolati per questo studio tra Marzo 2016 e Ottobre 2017.

Di seguito verranno presentati i risultati preliminari, provvisori ed ongoing relativi al T0, mentre i dati longitudinali relativi al T1 e al T2 sono ancora in fase di raccolta, di sequenziamento metagenomico o di elaborazione computazionale.

L'analisi delle caratteristiche demografiche e dei parametri clinici della popolazione campionata ha mostrato che i gruppi di studio che comprendevano soggetti con un impianto sano (H, N = 47), un impianto con mucosite (M, N = 29) e un impianto con peri-implantite (P, N = 32) sono stati confrontati per età, sesso, sito implantare, tipo di impianto, età dell'impianto, tipo di restauro e tipo di ritenzione e non sono emerse differenze significative tra questi tre gruppi ($p > 0,05$). I pazienti con storia di parodontite comprendevano il 38,9 % del campione, i fumatori il 20,4%, ed i pazienti diabetici il 7,4%; anche per queste tre caratteristiche i gruppi di studio risultavano omogenei tra loro ($p > 0,05$).

Quando i parametri clinici sono stati considerati a livello di impianto, PPD, PI, BOP e la perdita di tessuto osseo era significativamente più alta nella peri-implantite rispetto al gruppo di salute perimplantare ($p < 0,05$). Differenze significative tra i gruppi sono state osservate per i parametri clinici che li hanno definiti ($p < 0,0001$).

Campioni microbiologici

In seguito alle varie fasi di estrazione del DNA, preparazione delle librerie, sequenziamento genomico, analisi primaria, analisi secondaria e validazione, un totale di 111 campioni microbiologici sono risultati idonei ad essere sottoposti ad analisi computazionale per lo studio delle caratteristiche del microbioma.

Il pool è risultato costituito da 25 campioni da impianti sani, 16 campioni da impianti con mucosite, 22 campioni da impianti con peri-implantite, 48 campioni da elementi (denti/impianti) sani controlaterali.

Risultati generali - Heatmap (Fig. 2)

Nella heatmap, dove all'aumentare dell'intensità di colore corrisponde un maggiore abbondanza relativa delle specie microbiche, sono rappresentati sull'asse delle X i 111 campioni microbiologici mentre sull'asse delle Y le 50 specie batteriche più abbondanti.

L'analisi computazionale dei 111 campioni microbiologici ha individuato in totale la presenza di 325 specie batteriche, con una media di 51 specie batteriche per ogni campione.

Nessuna specie microbica è risultata presente contemporaneamente in tutti i campioni, sottolineando come ogni campione possieda una propria composizione altamente individuale e specifica in termini di microbioma.

Un forte tratto del microbioma nei siti con peri-implantite (Fig. 3)

In questo grafico di ordinamento gli assi X e Y consentono una distribuzione spaziale dei campioni microbiologici e ogni punto rappresenta un campione diverso. La distanza tra i campioni non riflette alcuna misura biologica ed è il più proporzionale possibile rispetto alla reale distanza tra i campioni sulla base del loro microbioma. In questo modo è possibile osservare quali campioni tendono a clusterizzare insieme, colorarli sulla base della loro condizione e osservare la presenza di schemi macroscopici evidenti.

In questo grafico è stato scelto il colore verde per i campioni sani, il colore rosso per i campioni di mucosite e il blu per i campioni di peri-implantite.

In primo luogo, il grafico mostra chiaramente come i campioni di peri-implantite, sulla sinistra, possono essere riconosciuti distintamente dai campioni sani, sulla destra, e questo denota come il nucleo del microbioma dei campioni di peri-implantite sia nettamente diverso da quello di campioni sani. In secondo luogo, ma non meno importante, vi è una chiara tendenza dei campioni di peri-implantite a clusterizzare insieme e questa è un'indicazione di come i campioni di peri-implantite siano significativamente più simili tra loro rispetto ai campioni sani.

Da questo grafico è quindi chiaro che un tratto distintivo del microbioma è molto più evidente negli impianti con peri-implantite rispetto agli impianti in stato di salute.

La mucosite mostra un tratto microbico intermedio tra peri-implantite e stato di salute (Fig. 4)

In questo grafico di ordinamento deve essere focalizzata l'attenzione sui campioni microbiologici prelevati da siti implantari con mucosite. Tali campioni, in rosso, sono ben distribuiti tra campioni di peri-implantite e campioni sani, con una maggiore tendenza verso i campioni di peri-implantite. Ciò significa che la mucosite mostra un tratto microbico intermedio e non definito tra peri-implantite e stato di salute, cioè in alcuni pazienti la composizione del microbioma associato alla mucosite è più simile a un microbioma sano mentre in altri pazienti, la maggior parte, è più simile al microbioma associato alla peri-implantite.

Questa osservazione è molto importante in quanto sottolinea che ci sono probabilmente diversi livelli di gravità della mucosite, ma questa osservazione potrà essere confermata solo con i dati longitudinali attualmente in fase di elaborazione. Alcuni casi, vedi quelli con un microbioma più simile alla peri-implantite, potrebbero essere probabilmente più difficili da trattare e potrebbero avere un maggiore rischio di evoluzione in peri-implantite mentre quelli con un microbioma più sano potrebbero essere mucositi più lievi. In tale contesto, tuttavia, si dovrà indagare se la mucosite con un microbioma più simile allo stato di salute sia dovuta al fatto che la mucosite si trovi in uno stato iniziale o in realtà abbia effettivamente un'aggressività inferiore.

A prescindere da ciò, va sottolineato, tuttavia, l'importanza che l'analisi del microbioma associato alla mucosite potrebbe avere al fine di comprendere l'effettivo stato della malattia e il rischio individuale di sviluppare peri-implantite.

Il microbioma della peri-implantite è sito specifico (Fig. 5)

Questo grafico di ordinamento mostra campioni microbiologici prelevati da un dente controlaterale sano (o impianto sano) nella bocca di pazienti con un impianto/i sani, colore verde, con almeno un impianto con mucosite, colore rosso, e con almeno un impianto con peri-implantite, colore blu.

Dalla distribuzione è chiaro come i campioni controlaterali sani appartenenti ai tre diversi gruppi siano diffusi e ben distribuiti e non presentino differenze sostanziali tra loro in termini di composizione del microbioma. Inoltre, la distribuzione sembra molto simile a quella dei campioni microbiologici prelevati da impianti test sani. Campioni controlaterali sani hanno naturalmente una loro composizione microbica propria ma non è presente né un marcato tratto microbico né alcun tipo di clusterizzazione.

Questa informazione è di fondamentale importanza perché permette di dedurre come il microbioma associato alla peri-implantite sia sito-specifico. Nel dettaglio, si dimostra come il microbioma di siti sani, sia in pazienti sani che in pazienti con peri-implantite, sia sovrapponibile e quindi come il microbioma della peri-implantite dipenda dal singolo sito implantare e non sia legato alla bocca del paziente. Di conseguenza, appare come sia molto probabile che la previsione della peri-implantite non possa essere effettuata a priori in pazienti implantari sani in base alla composizione del loro microbioma dentale generale, ma solo attraverso la valutazione di possibili cambiamenti nella composizione del microbioma peri-implantare locale.

Alte capacità predittive di un sistema di apprendimento automatico (Fig. 6)

E' stata valutata la capacità di un sistema di apprendimento automatico (Machine learning) attraverso l'algoritmo statistico random forest di decifrare lo stato di salute o di malattia di un campione sulla base della composizione del microbioma peri-implantare.

È emerso come la peri-implantite possa essere essere predetta quasi perfettamente rispetto allo stato di salute (Auc 0.92) in base alla composizione microbica, confermando il tratto altamente distintivo del microbioma della peri-implantite.

Il sistema di apprendimento automatico ha confermato come la mucosite rappresenti una condizione intermedia, essendo essa più difficilmente predicibile rispetto allo stato di salute (Auc 0.81) ed ancora di più rispetto alla peri-implantite (Auc 0.75).

Diverse specie microbiche caratterizzano ogni condizione clinica

Il tool LEFSE ha permesso di valutare in termine di presenza e di abbondanza le specie microbiche maggiormente differenziali tra le diverse condizioni cliniche (Peri-implantite vs Mucosite, Peri-implantite vs Sano, Mucosite vs Sano) e valutato la dimensione dell'effetto (Effect size) di tale differenza attraverso la Linear discriminant analysis (LDA).

È emerso come *Porphyromonas Gingivalis*, *Tannerella Forsythia*, *Porphyromonas Endodontalis*, *Prevotella Intermedia* e *Fretibacterium Fastidiosum* siano le specie microbiche maggiormente differenzianti il microbioma della peri-implantite rispetto sia allo stato di salute che alla mucosite.

È emerso invece come le specie microbiche differenzianti la mucosite rispetto allo stato di salute (*Fusobacterium Nucleatum*, *Eubacterium brachy*, *Parvimonas unclassified*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Treponema denticola*) ed alla peri-implantite (*Prevotella Oris*, *Prevotella Nigrescens*, *Veilonella parvula*, *Selenomonas noxia*, *Neisseria unclassified*) non siano univoche, ma ben diverse tra loro con nessuna specie in comune, sottolineando ancora una volta come il microbioma associato alla mucosite abbia un tratto intermedio significativamente meno distintivo di quello della peri-implantite e dello stato di salute.

Conclusioni

La caratterizzazione del microbioma sottomucoso peri-implantare attraverso tecniche di sequenziamento metagenomico ad alta risoluzione di tipo shotgun si rileva come un potente predittore di malattia suggerendo possibili approcci diagnostici e terapeutici basati sull'analisi dei tratti microbici.

I dati hanno mostrato chiaramente come il microbioma della peri-implantite sia sito-specifico e non paziente-specifico, caratterizzato da un marcato tratto microbico distintivo e predittivo di patologia.

La mucosite, oltre che clinicamente, anche dal punto di vista microbico rappresenta una condizione intermedia, in alcuni casi più simile allo stato di salute e in altri alla peri-implantite lasciando presupporre l'esistenza di mucositi con severità e risposta al trattamento differente.

È risultata evidente l'impossibilità di individuare antecedentemente alla terapia implantare pazienti a maggior rischio di sviluppare peri-implantite sulla base del loro microbioma dentale/implantare sano, in quanto anche nella bocca di pazienti che sviluppano patologia il microbioma sano non manifesta alterazioni evidenti.

Il microbioma specifico della peri-implantite sembra essere caratterizzato da specie batteriche ulteriori e diverse rispetto a quelle dei complessi microbici di Socransky tradizionalmente associati alla eziologia delle malattie parodontali. Pur rimanendo evidente il legame con due delle tre specie del Red complex quali *Porphyromonas Gingivalis* e *Tannerella Forsythia*, è chiara una forte associazione della peri-implantite rispetto alla parodontite con “nuove specie” batteriche quali *Porphyromonas Endodontalis* e *Fretibacterium Fastidiosum*.

Ringraziamenti

Si ringraziano tutti i pazienti volontari che hanno partecipato a questo progetto, tutto il personale degli studi dentistici privati, il Laboratorio di Metagenomica Computazionale del CIBIO per il supporto nelle analisi metagenomiche, il Dipartimento di Parodontologia dell'Università di Gothenburg per i confronti e le discussioni costruttive.

Questo progetto è stato supportato dalla Società Italiana di Parodontologia e Implantologia (SIdP), dall'Eklund Foundation e dall'International Team for Implantology (ITI).

Bibliografia

1. Heitz-Mayfield LJ, Needleman I, Salvi GE, Pjetursson BE. Consensus statements and clinical recommendations for prevention and management of biologic and technical implant complications. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2014;29 Suppl:346-50.
2. Zitzmann NU, Berglundh T. Definition and prevalence of peri-implant diseases. *J Clin Periodontol* 2008;35:286-291.

3. Derks J, Schaller D, Håkansson J, Wennström JL, Tomasi C, Berglundh T. Effectiveness of Implant Therapy Analyzed in a Swedish Population: Prevalence of Peri-implantitis. *J Dent Res*. 2016;95(1):43-9.
4. Smeets R, Henningsen A, Jung O, Heiland M, Hammächer C, Stein JM. Definition, etiology, prevention and treatment of peri-implantitis--a review. *Head Face Med* 2014 Sep 3;10:34.
5. Klinge B et al. The patient undergoing implant therapy. Summary and consensus statements. The 4th EAO Consensus Conference 2015. *Clin Oral Implants Res* 2015 Sep;26 Suppl 11:64-67.
6. Amoroso PF, Adams RJ, Waters MG, Williams DW. Titanium surface modification and its effect on the adherence of *Porphyromonas gingivalis*: an in vitro study. *Clin Oral Implants Res* 2006 Dec;17(6):633-7.
7. Rakic M, Grusovin MG, Canullo L. The Microbiologic Profile Associated with Peri-Implantitis in Humans: A Systematic Review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2016;31(2):359-68.
8. Faveri M, Figueiredo LC, Shibli JA, Pérez-Chaparro PJ, Feres M. Microbiological diversity of peri-implantitis biofilms. *Adv Exp Med Biol* 2015;830:85-96.
9. Lafaurie GI, Sabogal MA, Castillo DM, Rincón MV, Gómez LA, Lesmes YA, Chambrone L. Microbiome and Microbial Biofilm Profiles of Peri-Implantitis: A Systematic Review. *J Periodontol* 2017 Oct;88:1066-1089.
10. Charalampakis G, Belibasakis GN. Microbiome of peri-implant infections: lessons from conventional, molecular and metagenomic analyses. *Virulence*. 2015;6(3):183-7.
11. Segata N, Boernigen D, Tickle TL, Morgan X, Garrett WS, Huttenhower C. Computational meta'omics for microbial community studies. *Mol Syst Biol* 2013; 9: 1-15..
12. Bragg L, Tyson GW. Metagenomics using next-generation sequencing. *Methods Mol Biol* 2014;1096:183-201.
13. Segata N, Haake SK, Mannon P, Lemon KP, Izard J. Composition of the adult digestive tract microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples. *Genome Biol* 2012; 13: R42.
14. Apatzidou D, Lappin DF, Hamilton G, Papadopoulos CA, Konstantinidis A, Riggio MP. Microbiome of peri-implantitis affected and healthy dental sites in patients with a history of chronic periodontitis. *Arch Oral Biol* 2017;83:145-152.
15. Sanz-Martin I, Doolittle-Hall J, Teles RP, Patel M, Belibasakis GN, Hämmerle CHF, Jung RE, Teles FRF. Exploring the microbiome of healthy and diseased peri-implant sites using Illumina sequencing. *J Clin Periodontol* 2017 Aug 2.
16. Schincaglia GP, Hong BY, Rosania A, Barasz J, Thompson A, Sobue T, Panagakos F, Burleson JA, Dongari-Bagtzoglou A, Diaz PI. Clinical, Immune, and Microbiome Traits of Gingivitis and Peri-implant Mucositis. *J Dent Res* 2017;96(1):47-55.
17. Yu XL, Chan Y, Zhuang LF, Lai HC, Lang NP, Lacap-Bugler DC, Leung WK, Watt RM. Distributions of *Synergistetes* in clinically-healthy and diseased periodontal and peri-implant niches. *Microb Pathog* 2016;94:90-103.
18. Li ZJ, Wang SG, Li YH, Tu DX, Liu SY, Nie HB, Li ZQ, Zhang JM. Study on Microbial Diversity of Peri-implantitis Subgingival by High-throughput Sequencing. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* 2015;46(4):568-72. Chinese.

19. Tsigarida AA, Dabdoub SM, Nagaraja HN, Kumar PS. The Influence of Smoking on the Peri-Implant Microbiome. *J Dent Res* 2015;94(9):1202-17.
20. Dabdoub SM, Tsigarida AA, Kumar PS. Patient-specific analysis of periodontal and peri-implant microbiomes. *J Dent Res*. 2013 Dec;92(12 Suppl):168S-75S.
21. Donati C, Zolfo M, Albanese D, Tin Truong D, Asnicar F, Iebba V, Cavaliere D, Jousson O, De Filippo C, Huttenhower C, Segata N. Uncovering oral Neisseria tropism and persistence using metagenomic sequencing. *Nat Microbiol* 2016;1(7):16070.
22. NIH HMP Working Group et al. The NIH Human Microbiome Project. *Genome Res* 2009;19:2317-23
23. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998 Feb;25(2):134-44.
24. Zenobia C, Hajishengallis G. Porphyromonas gingivalis virulence factors involved in subversion of leukocytes and microbial dysbiosis. *Virulence* 2015;6(3):236-43.
25. Lindhe J, Meyle J; Group D of European Workshop on Periodontology. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol* 2008 Sep;35(8 Suppl):282-5.
26. Aronesty E. Comparison of sequencing utility programs. *Open Bioinforma J* 2013;7:1-8.
27. Langmead B, Salzberg SL. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nat Methods* 2012;9:357-359.
28. Truong DT et al. MetaPhlan2 for enhanced metagenomic taxonomic profiling. *Nat Methods* 2015;12: 902-903.
29. Segata N et al. Metagenomic microbial community profiling using unique clade-specific marker genes. *Nat. Methods* 2012; 9, 811-814.
30. Abubucker S et al. Metabolic reconstruction for metagenomic data and its application to the human microbiome. *PLoS Comput Biol* 2012;8:e1002358.
31. Kanehisa M, Goto S, Sato Y, Furumichi M, Tanabe M. KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular data sets. *Nucleic Acids Res* 2012;40: D109-D114.
32. Edgar RC. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics* 2010;26:2460-2461.
33. Bray JR, Curtis JT. An ordination of the upland forest communities of Southern Wisconsin. *Ecol Monogr* 1957;27:325-349.
34. Breiman L. Random forests. *Mach Learn* 2001; 45:5-32.
35. Pasolli E, Truong DT, Malik F, Waldron L, Segata N. Machine learning meta-analysis of large metagenomic datasets: tools and biological insights. *PLoS Comput Biol* 2016;12:e1004977.

FIGURE

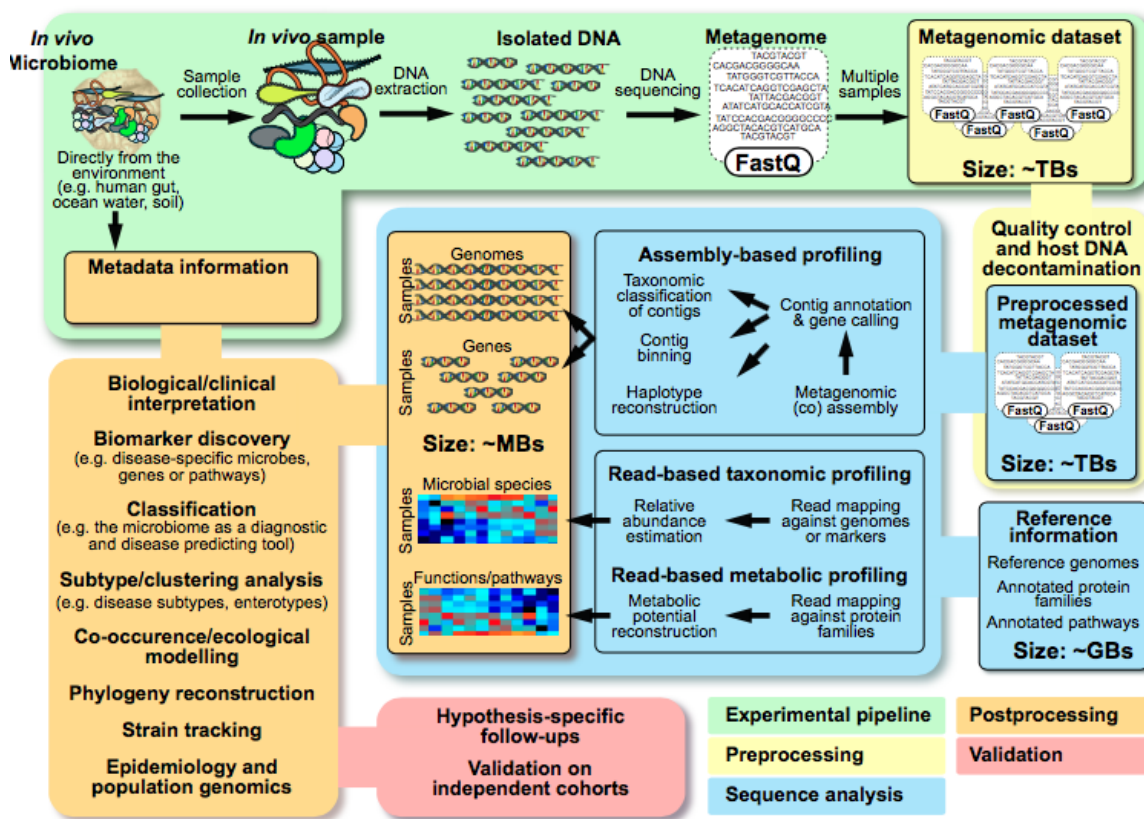


Figura 1. Workflow del sequenziamento metagenomico di tipo Shotgun

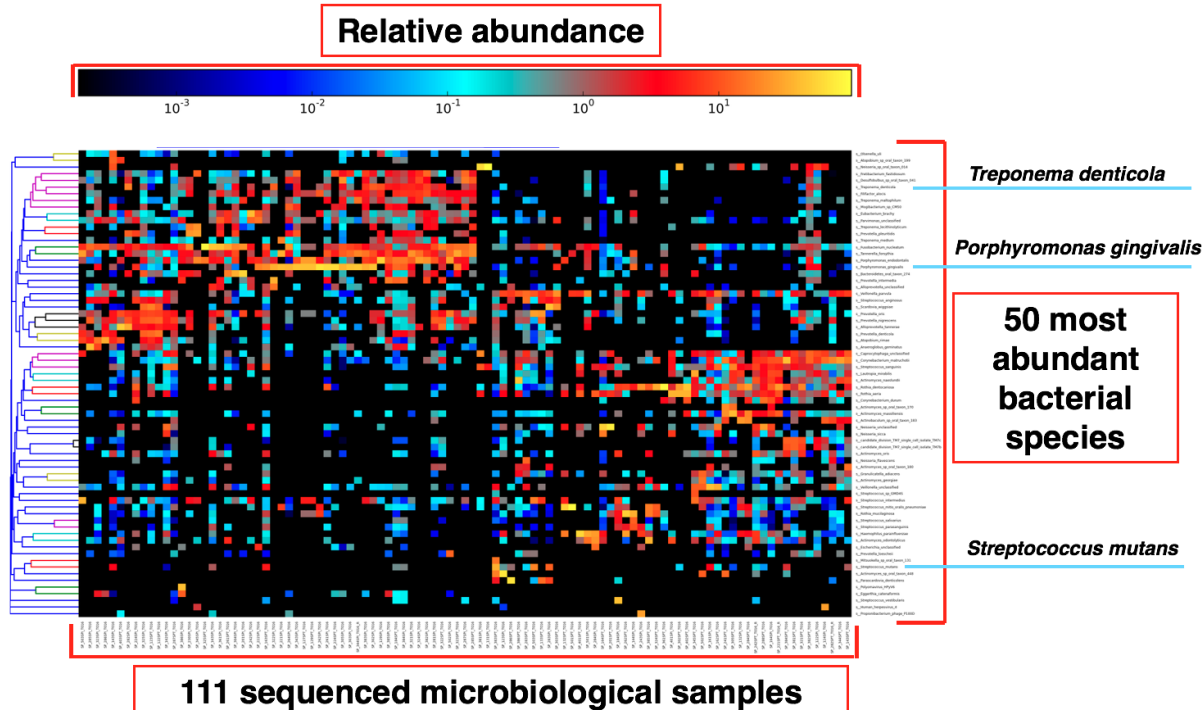


Figura 2. Heatmap in cui vengono riportati sull'asse delle X i 111 campioni microbiologici mentre sulla delle Y le 50 specie batteriche relativamente più abbondanti

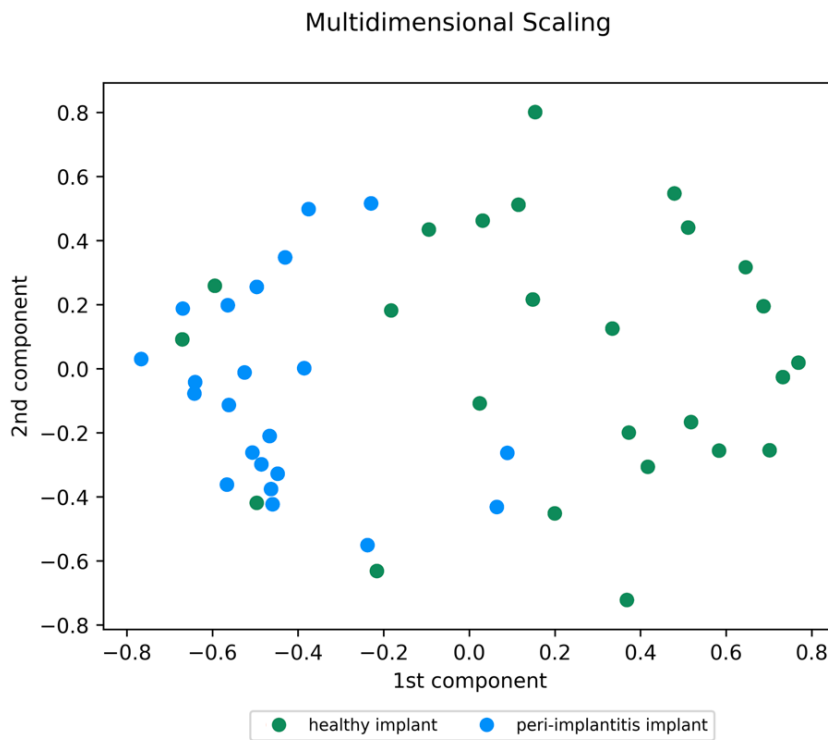


Figura 3. Grafico di ordinamento con campioni sani (colore verde) e campioni di peri-implantite (colore blu)

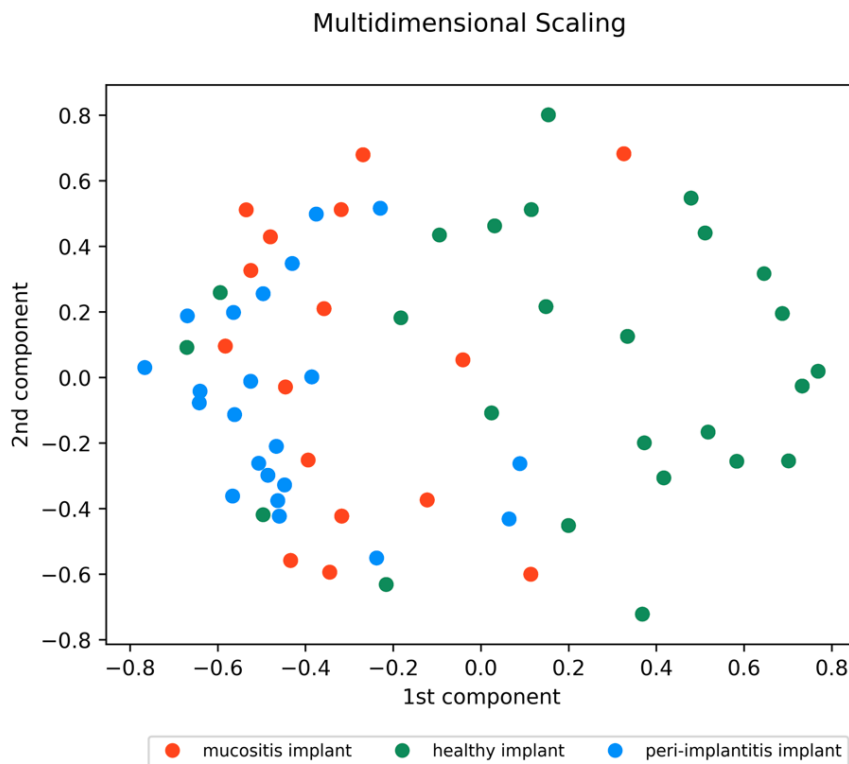


Figura 4. Grafico di ordinamento con campioni sani (colore verde), campioni di mucosite (colore rosso) campioni di peri-implantite (colore blu)

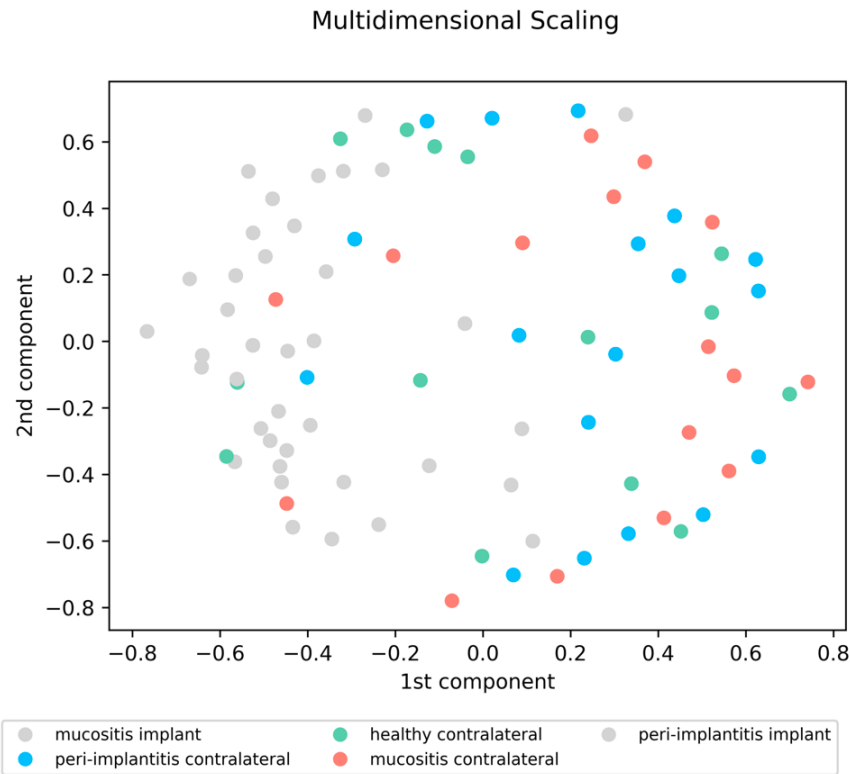


Figura 5. Grafico di ordinamento con campioni sani controlaterali di tutti e tre i gruppi (stato di salute - verde, mucosite - rosso, peri-implantite - blu). In grigio i campioni di mucosite e peri-implantite

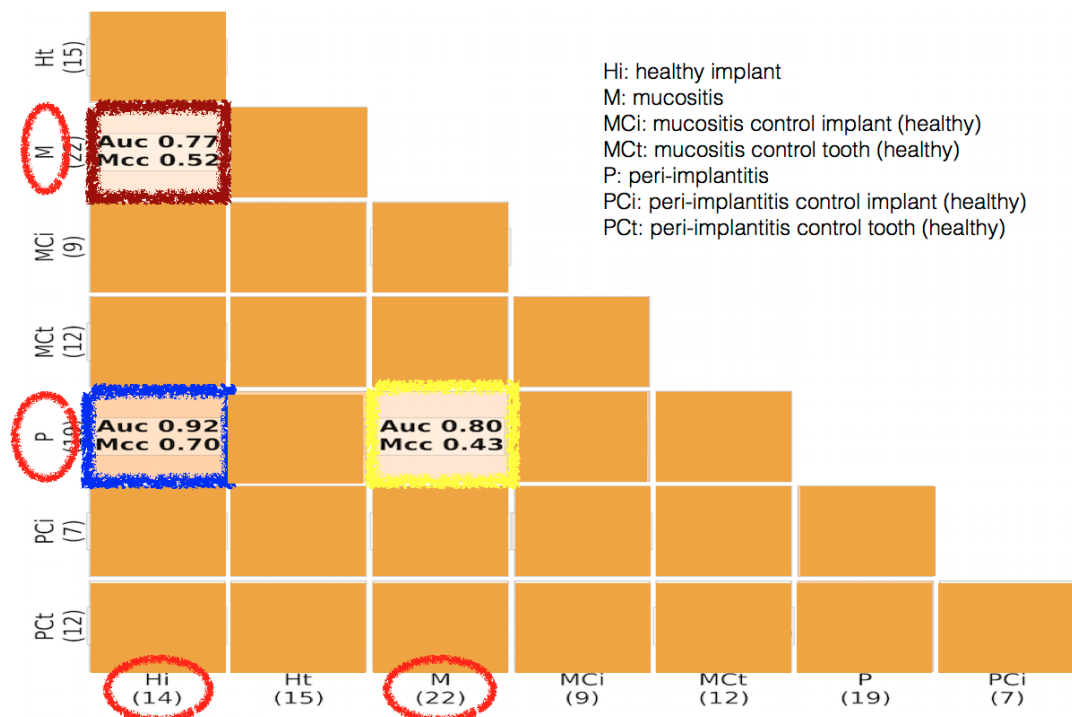


Figura 6. Capacità di predizione di un sistema di apprendimento automatico (Machine learning)

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

IL RUOLO DEL PERIOSTIO NELLA STABILITÀ MARGINALE DEL LEMBO SPOSTATO CORONALMENTE. STUDIO CLINICO RANDOMIZZATO

Clementini Marco⁽¹⁾, Discepoli Nicola⁽²⁾, Danesi Carlotta⁽¹⁾, de Sanctis Massimo⁽¹⁾

(1) Dipartimento di Parodontologia, Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italy

(2) Dipartimento di Parodontologia, Università degli Studi di Siena, Siena, Italy

Riassunto

Aim: to evaluate the possible benefit on wound healing and flap stability of periosteum inclusion, comparing a “split-full-split” thickness flap elevation versus a “split” thickness approach performed during CAF for the treatment of isolated-type gingival recessions in the upper jaw.

Material and Methods: forty patients were randomized, 20 were treated with “split-full-split” (test group) and 20 with a “split” approach (control group). Analyzed parameters at 1 year were: CRC, percentage of Recession Coverage (RC), Keratinized tissue (KT) gain, patient-related outcome measurements.

Results: after 12 months, CRC was 80% in the test group and 35% in the control group. Percentages of RC and KT gain were higher in the test group and a significant association between recession reduction and the thickness of the flap after elevation was found. Patient-related outcomes measurements were better for the test group.

Conclusions: flap thickness preservation and the presence of the periosteum in part of the flap may play a fundamental role in obtaining CRC.

Introduzione

Il trattamento delle recessioni gengivali vestibolari (GR) è una richiesta abbastanza comune da parte di alcuni pazienti, sia per motivazioni estetiche che per la presenza di ipersensibilità radicolare (Tonetti & Jepsen, 2014). Le recessioni gengivali (GR), se non trattate, non migliorano spontaneamente; la loro profondità (RD), come quindi anche la perdita di attacco, può anzi aumentare incrementando ulteriormente le eventuali problematiche estetiche e l'ipersensibilità dentale (Chambrone & Tatakis, 2016).

La copertura radicolare completa (CRC) può essere considerata l'outcome primario a livello clinico (Chambrone & Tatakis, 2015) e la scelta della tecnica chirurgica dipende principalmente dalle condizioni anatomiche locali e dalle richieste del paziente (De Sanctis & Clementini, 2014).

In situazioni cliniche in cui è presente una certa quantità di tessuto cheratinizzato apicalmente alla recessione risulta indicato il lembo spostato coronalmente (CAF). In letteratura sono stati descritti alcuni fattori riguardanti questa tecnica chirurgica che risultano critici per il raggiungimento della CRC. Tra quelli di maggiore importanza ci sono l'ottenimento di un lembo privo di tensione (Pini Prato e coll., 2000) e il posizionamento del lembo coronalmente alla CEJ (Pini Prato e coll., 2005). Anche lo spessore del lembo inoltre sembra influenzare il risultato clinico del CAF (Baldie coll., 1999).

Il CAF è ampiamente validato in letteratura per il trattamento delle recessioni singole (Cairo e coll. 2014), ed attualmente sono disponibili diverse tipologie di disegno del lembo (Norberg e coll., 1926; Bernimoulin e coll., 1975; Allen & Miller, 1989; Pini Prato e coll., 1992). De Sanctis

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

e Zucchelli (2007) hanno recentemente introdotto per il CAF una modalità di elevazione del lembo a spessore misto. Secondo questi autori la modulazione nella elevazione del lembo (parziale-totale-parziale), includendo nell'area centrale il periostio, aumenterebbe lo spessore dello stesso nella porzione che andrebbe a coprire la superficie radicolare avascolare precedentemente esposta. In letteratura tuttavia è validato anche l'approccio a spessore parziale, che risulta molto comune nella pratica clinica (Cortellini et al 2009).

Attualmente non risulta chiaro se l'inclusione del periostio nella porzione centrale del lembo, in confronto ad un approccio chirurgico a spessore parziale, abbia un' influenza nell'ottenimento di una CRC. Scopo di questo studio clinico quindi è stato quello di valutare la stabilità di un CAF elevato a spessore misto (“parziale-totale-parziale”, SFPT) in confronto ad un CAF elevato a spessore parziale (PT) nel trattamento di recessioni gengivali singole del mascellare superiore.

Materiali e Metodi

Tipologia di studio

Questo è uno studio clinico parallelo, randomizzato, monocentrico, con analisi in cieco dei risultati, in accordo con il CONSORT statement (<http://www.consort-statement.org/>). Lo studio è stato registrato nel portale ClinicalTrials.gov (ID: NCT03417232). La flow chart dello studio è rappresentata in **figura 1**.

Popolazione.

Prima dell'inizio dello studio, in pieno accordo con i principi etici della dichiarazione di Helsinki riguardante le ricerche che coinvolgono soggetti umani, il protocollo è stato approvato dal comitato etico dell'Università di Siena (Ref. CAF0001 23.04.13). I partecipanti, inclusi previa firma di un consenso informato cartaceo, sono stati selezionati tra i pazienti in visita nel Dipartimento di Parodontologia dell'Università degli Studi di Siena da aprile 2013 ad aprile 2015.

Criteri di inclusione

Per essere inclusi nello studio i pazienti dovevano presentare i seguenti criteri:

- età maggiore di 18 anni
- assenza di malattie sistemiche o gravidanza,
- fumatori di ≤ 10 sigarette al giorno ,
- FMPS e FMBS $\leq 20\%$,
- presenza di almeno una recessione singola, uguale o maggiore di 2mm, appartenente alla classe di Miller I o II nel mascellare superiore, con un minimo di 2 mm di tessuto cheratinizzato apicale,
- giunzione smalto-cemento identificabile,
- elemento dentale vitale con assenza di carie o manufatti protesici,
- assenza di pregresse chirurgie parodontali.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Randomizzazione, assegnazione del trattamento, cecità.

Un soggetto non coinvolto in altri aspetti dello studio ha preparato una lista di randomizzazione a blocco (per genere e abitudine al fumo). L'assegnazione del trattamento è stata eseguita mediante l'apertura, dopo il disegno del lembo, di una busta sigillata contenente il tipo di elevazione (test: SFPT; controllo: PT). Il chirurgo era a conoscenza del tipo di trattamento. Gli esaminatori, i pazienti e lo statistico non erano a conoscenza delle procedure.

Valutazione clinica

Sono stati registrati, con una sonda parodontale (PCP UNC 15, Hu-Friedy), i seguenti parametri al baseline ed a 12 mesi:

- FMPS (O'Leary, 1972) e presenza/assenza di placca visibile nel sito,
- FMBS (Muhlemann & Son 1971) e presenza/assenza di sanguinamento al sondaggio nel sito
- RD, misurata dalla CEJ al margine gengivale,
- PD, misurata dal margine gengivale alla punta della sonda inserita nel solco gengivale,
- KTH, misurata dal punto più coronale del margine gengivale alla linea mucogengivale.

Altri parametri registrati sono stati:

- spessore gengivale (GT) al baseline, attraverso l'inserzione di un ago da anestesia fornito di stop di silicone perpendicolarmente ai tessuti molli a 3 mm dal margine gengivale,
- spessore del lembo (FT) registrato intra-chirurgicamente con un calibro modificato, eliminandone la molla (Baldi e coll. 1999).

Outcome centrati sul paziente

Tramite l'uso di una scala VAS (10 cm) sono stati valutati:

- discomfort post-operatorio riportato dal paziente, in termini di sanguinamento e dolore ad una settimana dalla chirurgia (0=nessun discomfort, 10=massimo discomfort),
- valutazione soggettiva estetica, in termini copertura radicolare e cromaticità tissutale a 12 mesi (0=pessima, 10=ottima),
- soddisfazione generale riguardo il trattamento a 12 mesi (0=insoddisfazione, 10=massima soddisfazione).

E' stata inoltre valutata la presenza/assenza di ipersensibilità dentinale tramite getto d'aria direzionato sul sito per 10 secondi.

Training degli esaminatori

Tutte le chirurgie sono state eseguite da uno stesso operatore (MC) e tutte le misurazioni cliniche sono state eseguite da due esaminatori ciechi rispetto al trattamento (N.D, C.D.), calibrati mediante la misurazione, due volte a distanza di 24 ore, del PD e RD di 3 pazienti non inclusi nello studio. Per determinare la riproducibilità inter ed intra- esaminatore è stato utilizzato il coefficiente statistico Kappa.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Pre-trattamento: modifica delle abitudini di igiene orale

Dopo l'esame di screening, tutti i soggetti hanno ricevuto una seduta di igiene orale professionale con istruzioni appropriate (tecnica di spazzolamento “a rullo”, diretta coronalmente per minimizzare il trauma a livello del margine gengivale) e detartrasi.

Il trattamento chirurgico non è stato attuato se il paziente non aveva raggiunto un adeguato standard di controllo della placca sopragengivale (FMPS < 20%), e una ridotta infiammazione tissutale (FMBS < 20%)

Tecnica chirurgica

Al disegno trapezoidale del lembo è seguita l'elevazione dello stesso:

- nel gruppo test (SFST): come descritto da De Sanctis e Zucchelli, (2007), a spessore misto, elevando a spessore parziale le papille chirurgiche, inserendo uno scollaperiostio nel solco per l'elevazione a spessore totale della parte centrale del lembo e infine a spessore parziale per l'eliminazione delle tensioni muscolari (**figura 2**)
- nel gruppo controllo (PT): come descritto da Cortellini e coll. (2009), a spessore parziale, elevando a spessore parziale le papille chirurgiche, inserendo la lama di bisturi nel solco per l'elevazione a spessore parziale della parte centrale del lembo e infine sempre a spessore parziale per l'eliminazione delle tensioni muscolari (**figura 3**)

A seguire, si è proceduto alla decontaminazione della superficie radicolare precedentemente esposta mediante levigatura e applicazione di EDTA per 2 minuti, al posizionamento del margine del lembo 1 mm coronale la CEJ ed infine alla sutura del lembo.

Controllo dell'infezione post-chirurgica

I pazienti sono stati istruiti a sciacquare con clorexidina allo 0.12 % due volte al giorno per un minuto. Due settimane dopo la chirurgia sono state rimosse le suture e al paziente è stato richiesto di continuare con gli sciacqui di clorexidina per altre 2 settimane in modo tale da mantenere il controllo di placca nell'area trattata.

Dopo questo periodo, i pazienti sono stati nuovamente istruiti ad una igiene meccanica dell'area trattata tramite l'uso di uno spazzolino post-chirurgico per un altro mese.

Tutti i pazienti sono stati quindi richiamati per appuntamenti di controllo a 2, 4, 8 settimane dalla chirurgia, e a 3, 6, 12 mesi di follow up.

Dimensionamento del campione

Erano richiesti 40 pazienti per avere il 95% di trovare, con una significatività del 2.5%, un incremento nell'outcome primario (CRC) dal 37% del gruppo controllo (Cortellini e coll. 2009) all'88% del gruppo test (De Sanctis e Zucchelli, 2007)

Analisi dei dati

La statistica descrittiva è stata espressa dalle medie con deviazioni standard (SD).

L'outcome primario (CRC) è stato calcolato come il numero di pazienti (in percentuale) che hanno ottenuto una copertura radicolare completa a 12 mesi. Gli outcome secondari sono rappresentati dal discomfort percepito dal paziente a 7 giorni (scala VAS discomfort) e dalla percentuale di RC, dai cambiamenti di RD, KTH e DH, dalle preferenze del paziente in termini di risultati estetici (scala VAS estetica) e dal grado di soddisfazione (scala VAS soddisfazione) a 12 mesi.

Il t-test di Student è stato usato per la valutazione delle differenze tra i 2 gruppi riguardo RD, PD, GT, FT, percentuale di RC, KTH, DH, VAS discomfort, VAS estetica e VAS soddisfazione. Il t-test è stato usato inoltre per valutare le differenze intra-gruppo (tra il baseline e 12 mesi di

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

follow up) riguardo RD, PD, KTH e DH. Il test chi-quadro di Pearson è stato usato per il confronto tra i due gruppi della CRC.

E' stata utilizzata una regressione lineare per mettere in relazione le percentuali di RC con il FT intraoperatorio.

Risultati

Popolazione di studio

Nello studio sono stati inclusi inizialmente 50 pazienti: 3 pazienti hanno rifiutato di partecipare, 3 pazienti non hanno poi soddisfatto i criteri di inclusione e 4 pazienti sono usciti dallo studio durante il follow up. Quaranta pazienti hanno quindi completato le procedure e sono stati analizzati (CONSORT flow chart, figura 1).

Durante il periodo di studio tutti i pazienti hanno dimostrato un buon controllo di placca sopragengivale ed i siti trattati non hanno mostrato BOP o placca visibile.

Non sono state rilevate differenze tra i gruppi riguardo l'età dei pazienti (test: 38.4 ± 9 ; controllo: 36.4 ± 12 ; $p > 0.5$), il genere (test: 15 donne; controllo: 14 donne; $p = > 0.5$), la distribuzione dei denti (test: 2 incisivi, 12 canini, 8 premolari; controllo: 3 incisivi, 10 canini, 9 premolari; $p = > 0.5$), e l'abitudine al fumo (test: 10 fumatori; controlli: 12 fumatori; $p = > 0.5$). (**Tabella 1**)

Parametri clinici

Il valore kappa ottenuto nella riproducibilità intra- e inter- esaminatore è stato rispettivamente di 0.88 e 0.82.

Nella **Tabella 2** sono riportati i dati clinici rilevati al baseline ed 1 anno dalla chirurgia.

Al baseline non si è riscontrata nessuna differenza significativa tra i due gruppi rispetto ad alcun parametro clinico: RD è stato 2.47 ± 0.9 mm per il gruppo test e 2.33 ± 0.9 mm per il gruppo controllo ($p = > 0.5$), PD è stato di 1.4 ± 0.7 mm per il gruppo test e 1.3 ± 0.8 mm per il gruppo controllo ($p = > 0.5$). KTH è stato di 2.5 ± 0.7 mm per il gruppo test e 2.6 ± 1 mm. per il gruppo controllo ($p = > 0.5$). Lo spessore del tessuto gengivale al baseline è stato di 0.9 ± 0.2 mm per il gruppo test e 0.9 ± 0.1 mm per il gruppo controllo ($p = > 0.5$). Dopo l'elevazione del lembo, lo spessore è stato significativamente diverso tra il gruppo test (0.93 ± 0.1 mm.) e il gruppo controllo (0.46 ± 0.1 mm).

Dopo 12 mesi, PD non ha mostrato cambiamenti nei due gruppi ($p = > 0.5$) mentre RD è diminuito in entrambi i gruppi rispetto al baseline. Ad un anno il gruppo test ha mostrato in maniera significativa una maggiore riduzione di RD ($p = < 0.01$) e percentuali maggiori di CRC (test: 80%; controllo: 35%; $p = < 0.01$) e RC (test: 92.3%; controllo: 72.5%; $p = < 0.01$). In termini di KTH si è riscontrata una diminuzione nel gruppo controllo ($- 0.6$ mm. $p = 0.5$) ed un leggero incremento nel gruppo test ($+ 0.2$ mm. $p = > 0.5$).

Le analisi di regressione lineare hanno mostrato un'associazione significativa ($p = 0.1$) tra la riduzione della recessione e lo spessore del lembo dopo la sua elevazione: all'aumentare dello spessore del lembo, aumenta la riduzione della recessione.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Outcome centrati *sul paziente*

Le statistiche descrittive a riguardo sono esposte in **Tabella 3**. Il sintomo dell'ipersensibilità è stato presente al baseline in 11/20 siti nel gruppo test e in 12/20 siti nel gruppo controllo mentre ad 1 anno è stato assente (0%) nel gruppo test e presente in 4/20 (20%) siti nel gruppo controllo. La scala VAS del discomfort percepito durante la prima settimana è stata di 2.3 ± 2.5 per il gruppo test e di 5.5 ± 2.4 per il gruppo controllo, mostrando una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi ($p = < 0.01$). Le scale VAS riguardanti la valutazione soggettiva dell'estetica e la soddisfazione del trattamento ad 1 anno sono state rispettivamente 8.80 ± 1 e 8.47 ± 1.1 per il gruppo test e 8.20 ± 1.6 e 8.20 ± 1.6 per il gruppo controllo, con nessuna differenza statistica (VAS estetica: $p = 0.2$ e VAS soddisfazione: $p = 0.7$) e tra i due gruppi. Considerando queste scale VAS nel range da 5 (giudizio neutro) a 10 (ottimo) è stata riscontrata una differenza significativa nel gruppo test per la scala VAS della soddisfazione ($p = < 0.5$) ma non per la scala VAS legata alla valutazione dell'estetica ($p = 0.05$).

Discussione

Il presente studio clinico randomizzato ha confrontato da un punto di vista clinico e di outcome legati al paziente 2 modalità diverse di CAF per il trattamento delle recessioni gengivali di classe I e II di Miller nel mascellare superiore. L'inclusione del periostio nella parte centrale del lembo (gruppo test SFST) ha riportato risultati clinici migliori in termini di CRC (outcome principale) e RC; in questo gruppo si è riscontrato inoltre un maggior decremento dell'ipersensibilità dentale ed un minore discomfort post-chirurgico.

Le importanti differenze cliniche riscontrate tra i due gruppi sembrano confermare il razionale biologico analizzato, ovvero l'inclusione del periostio nel lembo come fattore contribuente ad una maggiore stabilità al di sopra della superficie radicolare avascolare.

Durante le prime fasi di guarigione la stabilità del coagulo è messa a rischio dalle forze meccaniche che agiscono sui margini della ferita (Kon e coll., 1969, Wikesjo e coll., 1990, Laurens e coll., 2006). La tecnica chirurgica che prevede l'inserimento dello scollaperiostio all'interno del solco per il sollevamento del lembo previene la riduzione dello spessore marginale, evitando la formazione di piccole ferite e mantenendo integra l'intera struttura dell'area sulculare. Lo spessore maggiore dell'area marginale può giocare un ruolo nell'assorbire o deviare le forze di rottura della ferita che altrimenti sarebbero trasmesse al coagulo nell'interfaccia superficie radicolare-lembo, assicurando le condizioni biologiche per promuovere la creazione di un nuovo attacco al posto di un epitelio giunzionale lungo. (Haney e coll., 1993, Wikesjo e coll., 1991 a, b). Il periostio inoltre, con la sua elevata vascolarizzazione, fornisce un'importante risorsa di cellule (fibroblasti e macrofagi) e fattori di crescita, accelerando quindi la formazione di nuovo tessuto rifornendo cellule endoteliali (Potente e coll., 2011) e fibroblasti (Griebb e coll., 2011); la presenza di queste cellule nella ferita parodontale è utile per velocizzare la transizione da una fase catabolica ad una fase anabolica e quindi alla maturazione e la stabilizzazione del coagulo (Griebb e coll., 2011).

I risultati clinici ottenuti da questo studio sono in accordo con altre indagini simili dove si analizzavano una metodica di elevazione a spessore misto ed una elevazione a spessore parziale.

In un case series di 40 pazienti trattati con CAF elevato a spessore misto (De Sanctis & Zucchelli, 2007), la RC ottenuta dopo 1 anno è stata del 98.6% mentre la CRC si è ottenuta nell'88% dei casi. In maniera molto simile, nel nostro studio la RC è stata del 92,3% e la CRC è

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

stata raggiunta nell' 80% dei casi. In uno studio clinico multicentrico che confrontava un CAF elevato a spessore misto con l'aggiunta o meno di matrice in collagene (Jepsen e coll., 2012) è interessante notare come i risultati clinici sono stati invece minori. Nei siti trattati con il CAF senza l'aggiunta della matrice in collagene, dopo 6 mesi la RC ottenuta è stata del 72.6% e la CRC del 31%. Questo può essere parzialmente giustificato dalla natura dello studio (multicentrico con 6 differenti operatori). In accordo con i risultati ottenuti nel gruppo controllo del nostro studio (RC di 72,5% e CRC in 35% dei casi), Cortellini e coll. (2009), in uno studio clinico randomizzato multicentrico per il trattamento di 43 pazienti tramite il CAF elevato a spessore parziale, hanno ottenuto una RC media del 62.5% ed una CRC nel 37% dei casi dopo un periodo di 6 mesi. I risultati del nostro studio sono in accordo anche con dati pubblicati in una recente revisione sistematica (Cairo e coll. 2014) sul trattamento delle recessioni singole mediante il CAF, dove si riporta il raggiungimento di una RC tra il 34.2% ed il 96.6% e di una CRC dal 7.7 % all'88%.

Il differente spessore del lembo dopo le due modalità di elevazione (0.93 ± 0.1 mm per il gruppo test e 0.46 ± 0.1 mm per il gruppo controllo) indica la validità dell'approccio “parziale-totale-parziale” nella preservazione massima dello spessore tissutale nell'area marginale. Grazie all'analisi di regressione lineare si è evidenziata un'associazione significativa tra la riduzione della recessione e lo spessore del lembo dopo l'elevazione.

In letteratura è ampiamente descritto come sia fondamentale il ruolo occupato dallo spessore dei tessuti molli nel CAF per raggiungere un successo in termini di copertura radicolare. Come dimostrato da Baldi e coll. (1999), esiste una forte correlazione tra lo spessore del lembo e la riduzione della profondità delle recessioni, con uno spessore del lembo di minimo 0.8 mm. a garanzia dell'ottenimento di una CRC. La stessa associazione tra spessore del lembo e RC è stata dimostrata in una revisione sistematica che indagava se lo spessore del lembo potesse essere un fattore prognostico nella copertura radicolare (Hwang & Wang, 2006).

Nel nostro studio sono stati raggiunti ottimi risultati di copertura radicolare nel gruppo test, associate ad un leggero aumento di KTH. Questi risultati sono in accordo con i dati che derivano dal trattamento di recessioni singole con approccio “parziale-totale-parziale” (de Sanctis & Zucchelli, 2007, Jepsen e coll., 2012, Del Pizzo e coll., 2005, Modica e coll., 2000). Il gruppo controllo invece ha mostrato una diminuzione di KTH a seguito di uno scollamento a spessore totalmente parziale. Tali risultati sono in accordo con i dati ottenuti da Cortellini e coll. (2009), dove si osserva una perdita di KT a 6 mesi.

Il presente studio confronta per la prima volta in maniera randomizzata due tecniche differenti per il CAF nel trattamento di recessioni singole. In uno studio simile Mazzocco e coll. (2011) hanno studiato l'efficacia di uno spessore parziale confrontato con uno spessore totale, senza riportare differenze tra i due gruppi in termini di RC media e guadagno di KT dopo un periodo di guarigione di 6 mesi. Tuttavia la procedura chirurgica prevedeva l'aggiunta di un CTG al CAF nel trattamento di recessioni multiple adiacenti.

Nel Consensus Report del X Workshop Europeo di Parodontologia (Tonetti & Jepsen, 2014) si dichiara come gli outcome correlati al paziente debbano rappresentare il vero outcome in chirurgia mucogengivale. In questo studio clinico gli outcome basati sul paziente sono stati registrati tramite scala VAS, dopo 7 giorni come discomfort e dopo 12 mesi come valutazione estetica e grado di soddisfazione. E' stata inoltre registrata la presenza o assenza di ipersensibilità radicolare. Questa è stata riscontrata al baseline in più della metà' dei pazienti in entrambi i gruppi. La prevalenza di tale sintomatologia si trova in accordo con quella osservati

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

in altri studi clinici (Santamaria e coll. 2017, Cortellini e coll. 2009, Pini Prato e coll. 2005). L'ipersensibilità radicolare a 12 mesi è risultata assente nel gruppo test ma presente in piccola percentuale nel gruppo controllo. La presenza di tale sensibilità nel gruppo controllo può essere correlata alla bassa percentuale di CRC ottenuta. Il discomfort ad una settimana percepito dai pazienti del gruppo controllo è stato due volte maggiore di quello percepito dal gruppo test. La spiegazione può derivare dal diverso scollamento attuato e quindi da un coagulo sanguigno maggiore nel CAF a spessore parziale, con difficoltà del suo riassorbimento nella prima settimana di guarigione.

I risultati della scala VAS a 12 mesi del grado di soddisfazione e della valutazione estetica sono stati rispettivamente di 8.80 ± 1 e 8.47 ± 1.1 per il gruppo test e di 8.20 ± 1.6 e 8.20 ± 1.6 per il gruppo controllo, a confermare che una riduzione della recessione e l'ottenimento di una CRC è importante dal punto di vista del paziente. Considerando poi un range da 5 (neutro) a 10 (ottimo) sulla scala VAS della soddisfazione, si può affermare come questa sia stata maggiore nel gruppo test probabilmente per la presenza di una prevalenza maggiore di ipersensibilità radicolare nel gruppo controllo a 12 mesi.

Conclusioni

Considerando i limiti di questo studio, possiamo concludere che:

- 1) La modulazione del lembo nell'approccio “parziale-totale-parziale” preserva al massimo il suo spessore nella porzione che andrà a coprire la superficie radicolare originariamente esposta.
- 2) La preservazione dello spessore e quindi la presenza del periostio in parte del lembo ha un ruolo fondamentale nella riduzione della recessione e nell'ottenimento di una copertura radicolare completa ad un anno di follow up, con risultati migliori per il paziente.
- 3) La copertura radicolare non si associa ad un incremento significativo di KTH ad un anno

Parole chiave: *coronally advanced flap; gingival recession; complete root coverage; flap elevation; flap thickness*

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Bibliografia

Allen, E.P. & Miller, P.D. (1989). Coronal positioning of existing gingiva: Short term results in the treatment of shallow marginal tissue recession. *Journal of Periodontology* **60**, 316–319.

Baldi, C., Pini Prato, G.P., Pagliaro, U., Nieri, M., Saletta, D., Muzzi, L. & Cortellini, P. (1999). Coronally advanced flap procedure for root coverage. Is flap thickness a relevant predictor to achieve root coverage? A 19-case series. *Journal of Periodontology* **70**, 1077–1084

Bernimoulin, J.P., Luscher, B., & Muhlemann, H. (1975). Coronally repositioned periodontal flap. *Journal of Clinical Periodontology* **2**, 1–13.

Cairo, F., Nieri, M. & Pagliaro, U. (2014). Efficacy of periodontal plastic surgery procedures in the treatment of localized facial gingival recessions. A systematic review. *Journal of Clinical Periodontology* **41**, S44-S62

Chambrone, L. & Tatakis, D.N. (2016). Long-Term Outcomes of Untreated Buccal Gingival Recessions: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Periodontology* **87**, 796-808.

Chambrone, L. & Tatakis, D.N. (2015). Periodontal soft tissue root coverage procedures: a systematic review from the AAP Regeneration Workshop. *Journal of Periodontology* **86**, 8-51.

Cortellini, P., Tonetti, M., Baldi, C., Francetti, L., Rasperini, G., Rotundo, R., Nieri, M., Franceschi, D., Labriola, A. & Pini Prato, G.P. (2009). Does placement of a connective tissue graft improve the outcomes of coronally advanced flap for coverage of single gingival recessions in upper anterior teeth? A multi-centre, randomized, double blind, clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology* **36**, 68–79.

Del Pizzo, M., Zucchelli, G., Modica, F., Villa, R. & Debernardi, C. (2005). Coronally advanced flap with or without enamel matrix derivative for root coverage: a 2-year study. *Journal of Clinical Periodontology* **32**, 1181–1187

De Sanctis, M. & Clementini, M. (2014). Flap approaches in plastic periodontal and implant surgery: critical elements in design and execution. *Journal of Clinical Periodontology* **41**, 108-22.

De Sanctis, M. & Zucchelli G. (2007). Coronally advanced flap: A modified surgical approach for isolated recession-type defects: Three-year results. *Journal of Clinical Periodontology* **34**, 262-268.

Grieb, G., Steffens, G., Pallua, N., Bernhagen, J. & Bucala, R. (2011) Circulating fibrocytes- biology and mechanisms in wound healing and scar formation. *International Review of Cell and Molecular Biology* **291**, 1-19

Haney, J.M., Nilveus, R.E., Mc Millan P.J. & Wikesjö, U.M. (1993) Periodontal repair in dogs: expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes support wound stabilization and enhance bone regeneration. *Journal of Periodontology* **64**, 883-890.

Hwang, D. & Wang, H.L. (2006). Flap thickness as a predictor of root coverage: a systematic review. *Journal of Periodontology* **77**, 1625-1634.

Jepsen, K., Jepsen, S., Zucchelli, G., Stefanini, M., de Sanctis, M., Baldini, N., Greven, B., Heinz, B., Wennstrom, J., Cassel, B., Vignoletti, F. & Sanz, M. (2013). Treatment of gingival recession defect with a

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

coronally advanced flap and a xenogeneic collagen matrix: a multi-center randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology* **40**, 82–89.

Kon, S., Novaes, A.B., Ruben M.P. & Goldman H.M. (1969). Visualization of the microvascularization of the healing periodontal wound. IV. Mucogingival surgery: full thickness flap. *Journal of Periodontology* **40**,:441-456.

Laurens, N., Koolwijk, P. & de Maat, M.P. (2006) Fibrin structure and wound healing. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. **4**, 932-939

Mazzocco, F., Comuzzi, L., Stefani, R., Milan, Y., Favero, G. & Stellini, E. (2011) Coronally advanced flap combined with a subepithelial connective tissue graft using full- or partial-thickness flap reflection. *Journal of Periodontology* **82**, 1524-1529.

Miller, P. D. (1985). A classification of marginal tissue recession. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **5**, 8–13.

Modica, F., Del Pizzo, M., Rocuzzo, M. & Romagnoli, R.(2000) Coronally advanced flap for the treatment of buccal gingival recessions with and without enamel matrix derivative. A split-mouth study. *Journal of Periodontology* **71**, 1693-1698

Muhlemann, H. R. & Son, S. (1971) Gingival sulcus bleeding –a leading symptom in initial gingivitis. *Helvetica Odontologica Acta* **15**, 107–113.

Norberg, O. (1926). Ar en utlakning utan vovnad- sfortust otankbar vid kirurgisk behandling av. S. K. Alveolarpyorrhoe?. *Svensk Tandlaekare Tidskrift* **19**, 171.

O'Leary, T. J., Drake, R. B. & Naylor, J. E. (1972). The plaque control record. *Journal of Periodontology* **43**, 38.

Pini Prato, G.P., Tinti, C., Vincenzi, G., Magnani, C., Cortellini, P. & Clauser, C. (1992) .Guided tissue regeneration versus mucogingival surgery in the treatment of human buccal gingival recession. *Journal of Periodontology* **63**, 919–928.

Pini Prato, G.P., Pagliaro, U., Baldi, C., Nieri, M., Saletta, D., Cairo, F. & Cortellini, P. (2000). Coronally advanced flap procedure for root coverage. Flap with tension versus flap without tension: a randomized controlled clinical study. *Journal of Periodontology* **71**, 188–201.

Pini Prato, G.P., Baldi, C., Nieri, M., Franceschi, D., Cortellini, P., Clauser, C., Rotundo, R. & Muzzi, L. (2005). Coronally advanced flap: the post-surgical position of the gingival margin is an important factor for achieving complete root coverage. *Journal of Periodontology* **76**,713–722.

Potente M.1, Gerhardt, H. & Carmeliet P. (2011). Basic and therapeutic aspects of angiogenesis. *Cell* **146**, 873-887.

Santamaria, M.P., Neves, F.L.D.S., Silveira, C.A., Mathias, I.F., Fernandes-Dias, S.B., Jardini, M.A.N. & Takakis D.N. (2017). Connective tissue graft and tunnel or trapezoidal flap for the treatment of single maxillary gingival recessions: a randomized clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology* **44**, 540-547.

Tonetti, M.S. & Jepsen, S. (2014). Working Group 2 of the European Workshop on Periodontology. Clinical efficacy of periodontal plastic surgery procedures: consensus report of Group 2 of the 10th European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology* **41**, S36–S43

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Wikesjö, U.M. & Nilvéus, R. (1990). Periodontal repair in dogs: effect of wound stabilization on healing. *Journal of Periodontology*; **61**,719-724.

Wikesjö, U.M., Claffey, N. & Egelberg, J. (1991a) Periodontal repair in dogs. Effect of heparin treatment of the root surface. *Journal of Clinical Periodontology* **18**, 60-64.

Wikesjö, U.M., Claffey, N., Nilvéus, R. & Egelberg, J. (1991). Periodontal repair in dogs: effect of root surface treatment with stannous fluoride or citric acid on root resorption. *Journal of Periodontology* **62**,180-184.

Zucchelli, G., Mele, M., Stefanini, M., Mazzotti, C., Marzadori, M., Montebugnoli, L. & de Sanctis, M. (2010). Patient morbidity and root coverage outcome after subepithelial connective tissue and de-epithelialized grafts: a comparative randomized-controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology* **37**, 728-738

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

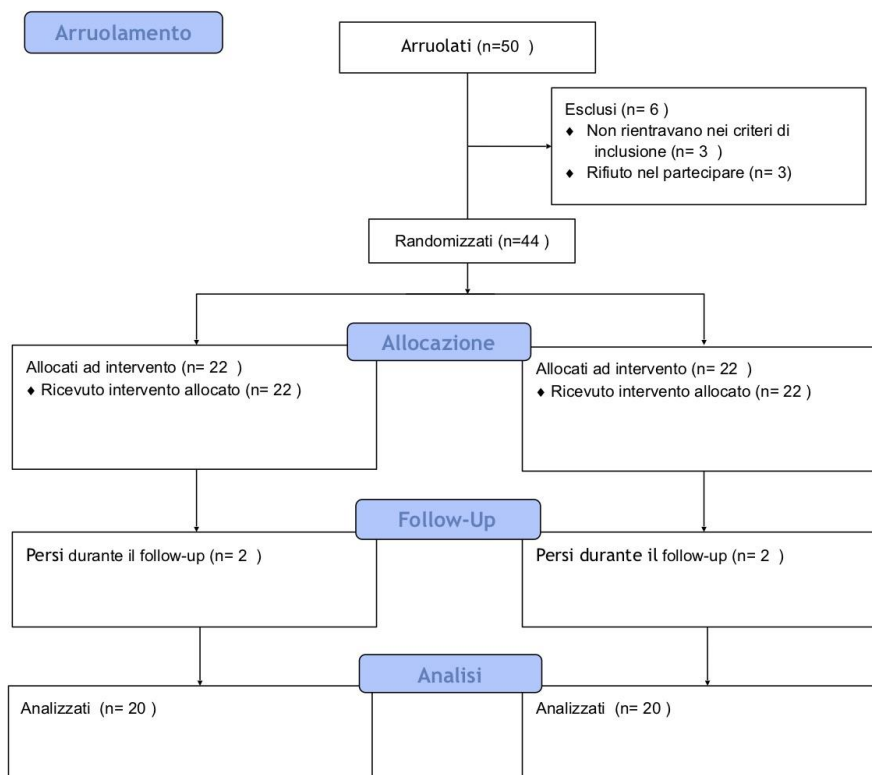
Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Figura 1. CONSORT flow chart dello studio



CONSORT 2010 Flow Diagram



SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Figura 2.

Approccio Parziale-Totale-Parziale (gruppo test) per il trattamento di una recessione gengivale singola.

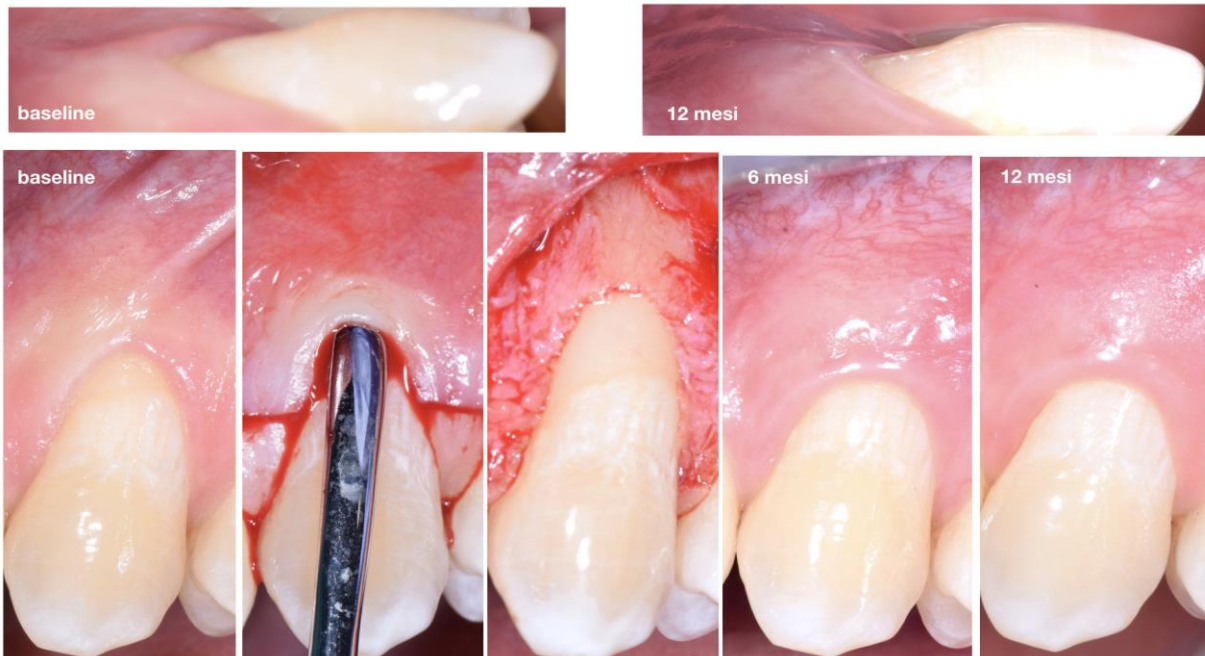


Figura 3. Approccio Parziale (gruppo controllo) per il trattamento di una recessione gengivale singola



SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Tabella 1. Popolazione di studio

	"parziale-totale-parziale" (N=22)	"parziale" (N=22)
ETÀ	38.4 ± 9 anni	36.4 ± 12 anni
GENERE	15 donne 7 uomini	14 donne 8 uomini
TIPOLOGIA DENTALE	2 incisivi 12 canini 8 premolari	3 incisivi 10 canini 9 premolari
FUMATORI	10	12

Tabella 2. Parametri clinici

	"parziale-totale-parziale" (N=20)	"totale" (N=20)
RD (mm)		
Baseline	2.47 ± 0.9	2.33 ± 0.9
12 mesi	0.23 ± 0.5* #	0.76 ± 0.7 *
PD (mm)		
Baseline	1.4 ± 0.7	1.3 ± 0.8
12 mesi	1.3 ± 0.8	1.2 ± 0.4
KT (mm)		

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

	“parziale-totale-parziale” (N=20)	“totale” (N=20)
Baseline	2.5 ± 0.7	2.6 ± 1
12 mesi	2.7 ± 0,8	2 ± 0.8 *
GT (mm)		
prechirurgico	0.9 ± 0.2	0.9 ± 0.1
FT (mm)		
intrachirurgico	0.93 ± 0.1 #	0.46 ± 0.1
RC (%)		
12 mesi	92,3 ± 16.6 #	72,5 ± 22.4
CRC (%)		
12 mesi	80% (16/20) #	35% (7/20)

* differenza statisticamente significativa intra-gruppo (baseline vs 12 mesi)

differenza statisticamente significativa inter-gruppo (test vs controllo)

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Tabella 3. Outcome centrati sul paziente

	“parziale-totale-parziale” (N=20)	“parziale” (N=20)
IPERSENSIBILITÀ		
baseline	60% (12/20)	55% (11/20)
12 mesi	0% (0/20) * #	20% (4/20) *
VAS DISCOMFORT		
7 giorni	2.3 ± 2.5 #	5.5 ± 2.4
VAS SODDISFAZIONE		
12 mesi	8.47 ± 1.1 §	8.20 ± 1.6
VAS ESTETICA		
12 mesi	8.80 ± 1	8.20 ± 1.6

* differenza statisticamente significativa intragruppo

differenza statisticamente significativa intergruppo

§ differenza statisticamente significativa quando il range della scala VAS è considerato da 5 (neutrale) a 10 (ottimo)

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

GENGIVITE SPERIMENTALE IN PAZIENTI CON ERUZIONE PASSIVA ALTERATA: STUDIO CASO-CONTROLLO. VALUTAZIONE CLINICA E ISTOLOGICA

EXPERIMENTAL GINGIVITIS IN PATIENTS WITH ALTERED PASSIVE ERUPTION(APE): A CASE CONTROL STUDY. CLINICAL AND HISTOLOGICAL EVALUATION

Aghazada R*, Marini L*, Ferlosio A.^, Trezza C*, Pacifici E*, Cerroni L^., Pilloni A*.

**Sapienza Università di Roma, Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche e Maxillo Facciali, Cattedra di Parodontologia; ^Dipartimento di Scienze Cliniche e Medicina Traslazionale dell'Università degli Studi di Roma "Tor Vergata"*

Abstract

Background & Aim

Literature suggest that the patients with APE are more susceptible to gingivitis and periodontitis but there is to-date no clinical study confirming this assumption. The aim of the present study is therefore to examine the onset, progress and the healing of experimental gingivitis in patients with APE when compared to patients with normal gingival anatomy.

Methods

For the present controlled, parallel-designed study were selected 9 patients with APE for the test group and 9 patients without APE as a control group. Experimental gingivitis was induced for 21 days on three teeth of the selected upper quadrant. Thereafter, patients were instructed to resume the proper home oral hygiene procedures. The following clinical parameters were obtained from the selected test and control sites in T0, at 7, 14, 21, 28, 35 and 42 days: AngBS, mGI, PLI, GCF.

After the experimental gingivitis, 5 of 9 patients with APE were treated surgically and the removed gingival tissue was subjected to histological examination.

Results

On day 21 (T3), at the time of maximum amount of plaque accumulation, there was a statistically significant difference between two groups in the gingival inflammatory indices AngBS, mGI ($p=0.002$)

Conclusion

In the case of plaque accumulation, the altered passive eruption is likely to be a predisposing factor for a more rapid progression of gingivitis with higher inflammation indexes (AngBs and mGI). Even if gingivitis in patients with altered passive eruption is developed much more rapidly, thorough home oral hygiene and plaque control conduces to complete clinical recovery.

Riassunto

Background & Scopo

Molti autori affermano che i pazienti con eruzione passiva alterata (EPA) siano più suscettibili alla gengivite e alla parodontite, ma non esiste studio clinico che confermi questa supposizione. Lo scopo dello studio è esaminare insorgenza, progressione e guarigione della gengivite sperimentale nei pazienti con EPA rispetto ai pazienti con anatomia gengivale normale.

Metodi

Per questo studio clinico parallelo-controllato sono stati selezionati 9 pazienti con EPA come gruppo test e 9 pazienti con anatomia gengivale normale come gruppo controllo. È stata indotta una gengivite sperimentale per 21 giorni su tre denti del quadrante superiore selezionato.

Successivamente i pazienti sono stati istruiti a riprendere le correlate manovre di igiene domiciliare.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

A T0, 7, 14, 21, 28, 35 e 42 giorni sono stati registrati: AngBS, mGI, PLI, GCF. Terminata la fase sperimentale, 5 pazienti su 9 con EPA sono stati trattati chirurgicamente e il tessuto gengivale rimosso è stato sottoposto a esame istologico.

Risultati

Al giorno 21, intervallo di massimo accumulo di placca, la differenza tra i due gruppi per gli indici di infiammazione gengivale AngBS e mGI è stata statisticamente significativa ($p=0.002$).

Conclusioni

La EPA sembra essere un fattore predisponente per una progressione della gengivite più rapida, con indici di infiammazione più elevati (AngBS e mGI). In entrambi i gruppi, l'igiene orale domiciliare ed il controllo di placca conduce ad una guarigione clinica completa.

Introduzione

L'eruzione passiva alterata (APE) (anche definita eruzione passiva ritardata¹) è una condizione patologica dovuta a un'alterazione della normale morfologia dell'apparato dento-parodontale conseguente a un'incompleta eruzione passiva dei denti^{2,3}. Più precisamente, si manifesta quando un dente ha raggiunto il piano oclusale e il margine gengivale è posizionato tra il terzo apicale e il terzo medio o a livello del terzo coronale della corona clinica in assenza di infiammazione, ipertrofia o iperplasia della gengiva^{4,5}

Nei soggetti con eruzione passiva alterata si possono riscontrare le seguenti caratteristiche cliniche: corone dentarie corte (lunghezza uguale o inferiore a 8 mm) e di forma quadrata a causa di un margine gengivale localizzato più coronalmente rispetto alla normalità e, quindi, più lontano dalla giunzione amelo-cementizia (CEJ) (può essere presente una pseudotasca gengivale o una mancanza di tono della gengiva a causa di quest'anomala posizione del margine); eccessiva esposizione della gengiva durante l'atto di sorridere (che comporta il cosiddetto “sorriso gengivale”); festonatura gengivale appiattita⁶⁻¹²

Per quanto riguarda, invece, i possibili fattori di rischio per la salute gengivale e/o parodontale, in letteratura si evidenzia che gli individui affetti da APE (in particolare i tipi 2A e 2B)¹³ presentano, in alcuni casi, un ridotto attacco connettivale, una stretta banda di gengiva aderente e difficoltà nell'igiene orale⁶.

È stata riportata una relazione tra la presenza di eruzione passiva alterata e gengivite ulcerativa necrotizzante acuta (GUNA)¹

Scopo dello studio

Sebbene molti autori affermino che i pazienti con eruzione passiva alterata siano più suscettibili alla gengivite e alla parodontite¹³⁻¹⁵ per la presenza di tessuto gengivale in eccesso, il quale impedisce le corrette manovre di igiene orale, non esiste ad oggi alcuno studio clinico che confermi questa supposizione. Lo scopo di questo studio è pertanto quello di esaminare l'insorgenza, la progressione e la guarigione della gengivite sperimentale nei pazienti con eruzione passiva alterata rispetto ai pazienti con anatomia gengivale normale.

Materiali e Metodi

Studio clinico: gengivite sperimentale in pazienti con eruzione passiva alterata:

Per realizzare questo lavoro sono stati condotti due studi sperimentali su pazienti affetti da eruzione passiva alterata: uno di tipo clinico con lo scopo di valutare le modalità di insorgenza e di guarigione della gengivite; uno di tipo istologico per analizzare le alterazioni a livello microscopico dovute alla flogosi e le caratteristiche morfologiche dei tessuti gengivali. Per entrambi gli studi è stata ottenuta l'approvazione da parte del Comitato Etico dell'Azienda

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

Ospedaliera Universitaria Policlinico Umberto I di Roma (Rif. 4398 per lo studio clinico e Rif. 3771 per lo studio istologico).

Presso il Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche e Maxillo Facciali (Sapienza Università di Roma), Reparto di Parodontologia, sono stati selezionati 9 pazienti affetti da eruzione passiva alterata per il gruppo caso e 9 pazienti con normale anatomia dei tessuti gengivali per il gruppo controllo.

Criteri di selezione dei pazienti:

Inclusione:

- Età tra 18-25 anni
- Sestanti anteriori superiore e inferiore completi
- Profondità di sondaggio ≤ 3 mm

Esclusione:

- Tabagismo
- Parodontite
- Malattie sistemiche
- Attrito patologico e bruxismo
- Immunocompromissione
- Assunzione di farmaci
- Stato di gravidanza o allattamento
- Dipendenza da alcool e/o sostanze stupefacenti
- Disturbi psichiatrici
- Restauri protesici e/o conservativi nel settore di interesse
- Lesioni periapicali o endo-parodontali
- Denti mal posizionati
- Alterazioni morfologiche della corona dentaria

Per questa sperimentazione sono stati presi in considerazione i seguenti indici:

- **Volume di Fluido Crevicolare Gengivale (GCF):** Per calcolarne il volume, il fluido crevicolare gengivale è stato raccolto mediante l'utilizzo di sottili strisce di carta assorbente (Periopaper; OraFlow Inc., Plainview, NY, USA). Previa asciugatura tramite l'utilizzo della siringa ad aria degli elementi dentari da esaminare e dopo isolamento della zona di interesse con rulli di cotone, le Periopaper sono state inserite delicatamente (fino ad avvertire una leggera resistenza, al fine di evitare qualsiasi trauma meccanico ai tessuti molli) all'interno del solco gengivale in corrispondenza del terzo mesiale della superficie vestibolare dei denti in esame. Dopo essere rimaste in posizione per 5 secondi, esse sono state trasferite nel Periotron 8000 (OraFlow Inc., Plainview, NY, USA), una specifica apparecchiatura elettronica per la determinazione del volume del fluido crevicolare preliminarmente calibrata. Questa macchina ha fornito dei valori digitali ottenuti dall'interpretazione dell'umidità delle Periopaper; essi, successivamente, sono stati convertiti in microlitri per una più facile analisi delle quantità di fluido crevicolare gengivale così ottenute. Eventuali strisce di carta contaminate da sangue durante le rilevazioni sono state scartate e il valore corrispondente è stato segnato come mancante. Questo perché il sito dentario in questione sarebbe risultato compromesso a causa del sanguinamento anche in caso di ripetizione della misurazione.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

- **Plaque Index (PI – Löe and Silness)**¹⁶: È stato determinato con l'aiuto di un rilevatore di placca liquido (PlaqSearch, TePe, Sweden) applicato, tramite un pellet di cotone, sull'intera superficie coronale dei denti.
- **Quigley Hein Plaque Index (Modified by Turesky) (QHT)**¹⁷: Per agevolarne l'interpretazione, è stato applicato, come precedentemente descritto, un rilevatore di placca (PlaqSearch, TePe, Sweden).
- **Angulated Bleeding Score (AngBS)**¹⁸: rappresenta un sensibile indicatore di precoci cambiamenti tissutali dovuti a infiammazione, che si manifestano con un sanguinamento gengivale spontaneo o provocato per mezzo di una sonda parodontale (nel nostro caso una sonda PCP-15 UNC) inserita nel solco con un'angolazione di circa 60° rispetto all'asse longitudinale del dente.
- **Modified Gingival Index (mGI)**¹⁶: essendo basato su un approccio non invasivo, non richiede l'utilizzo di una sonda parodontale, evitando in questo modo di mobilitare la placca e di causare l'insorgenza o la progressione di un'infiammazione dei tessuti gengivali. Stabilisce la severità di un'eventuale gengivite

In questa sperimentazione sono state previste 8 visite a distanza di una settimana l'una dall'altra (Fig.1):

- Prima visita o visita preliminare (T-1): ciascun paziente è stato sottoposto a una seduta di igiene orale professionale, comprendente l'ablazione del tartaro e il polishing. È stato, poi, motivato e istruito a eseguire precise manovre di igiene orale quotidiane tramite l'utilizzo di uno spazzolino elettrico (Oral-B Pro 3000, Braun, Procter and Gamble, USA), di un dentifricio specifico (AZ Pro-Expert, Procter and Gamble, USA) e di uno scovolino interdentale (TePe, Sweden) (di dimensioni scelte in base a ogni paziente) da noi consegnati. Questo allo scopo di standardizzare i valori di baseline di tutti i pazienti coinvolti nello studio. Nel corso della stessa visita, è stata, inoltre, rilevata un'impronta in alginato dell'arcata dentaria comprendente il settore di interesse. Il modello in gesso ottenuto da queste impronte è stato utilizzato, quindi, per realizzare una mascherina termostampata in resina trasparente relativa alla metà degli elementi dentari presi in esame. Tale mascherina è stata consegnata in occasione della visita successiva.
- Seconda visita (T0): sono state controllate le condizioni igieniche orali e di salute gengivale di ciascun paziente. In caso di persistenza di placca o di comparsa di infiammazione, è stata ripetuta la seduta di igiene orale professionale ed è stato chiesto al paziente di ripresentarsi la settimana successiva per una nuova visita T0; in caso, invece, di salute gengivale il paziente ha potuto proseguire le ulteriori fasi dello studio. Dunque, sono stati valutati gli indici sopraesposti ed è stata consegnata la mascherina realizzata in precedenza sulla base delle impronte rilevate al tempo T-1. Ogni paziente per le tre successive settimane ha dovuto indossare la mascherina durante le manovre di igiene orale domiciliare al fine di escludere dalle stesse i denti interessati e indurvi, quindi, la gengivite sperimentale.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

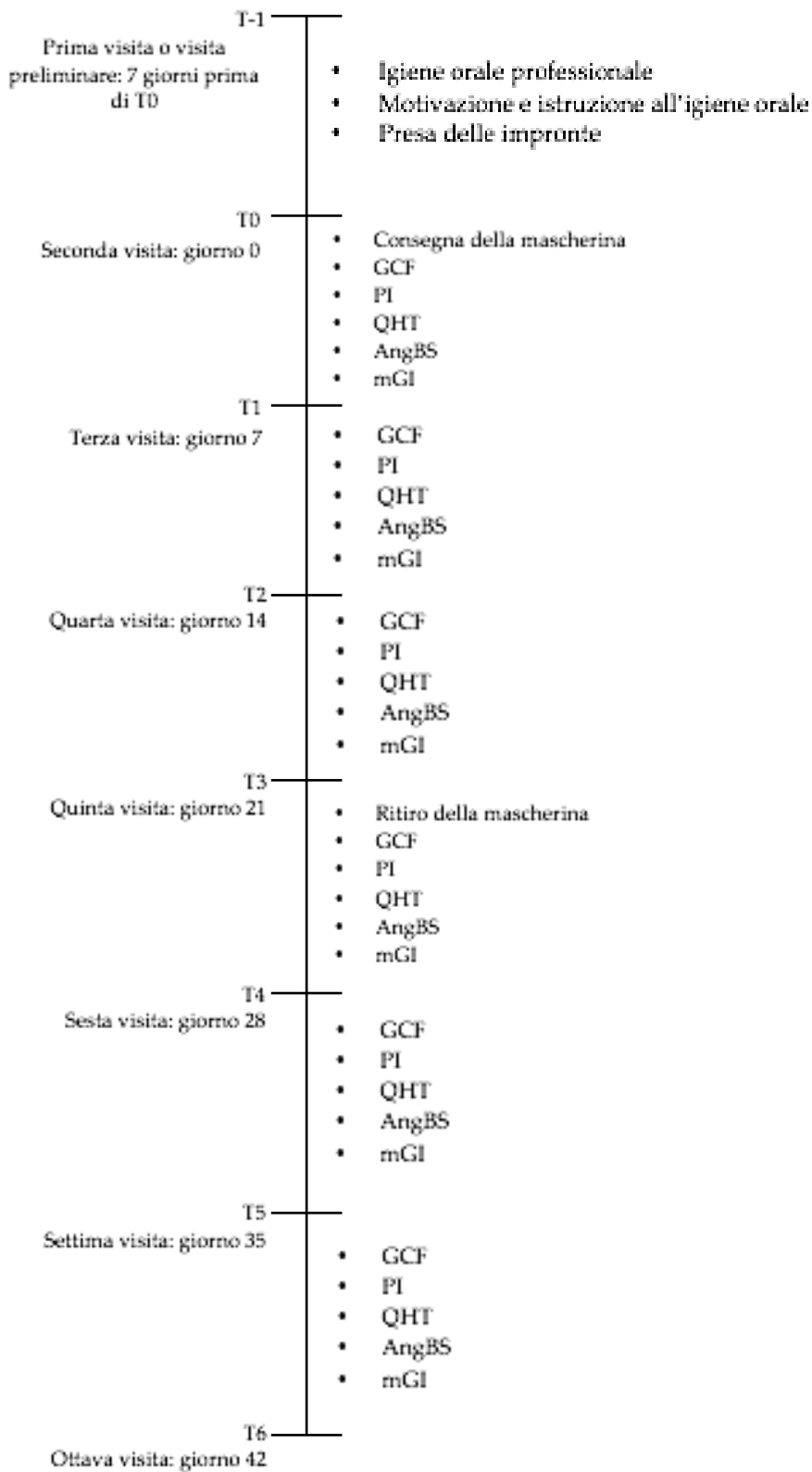


Fig.1. Flowchart dello studio sulla gengivite sperimentale

T1: dopo la prima settimana di utilizzo della mascherina, sono stati nuovamente registrati gli indici di valutazione di ciascun paziente.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

- T2: questa fase si è svolta in modo analogo alla precedente.
- T3: al termine della terza settimana di applicazione della mascherina, sono stati annotati gli indici usati nello studio e, da protocollo, al paziente è stato chiesto di abbandonare l'utilizzo della mascherina e di ripristinare anche nel settore finora escluso le manovre di igiene orale domiciliare illustrate inizialmente.
- T4: trascorsa una settimana di igiene orale quotidiana senza l'applicazione della mascherina, sono stati ancora rilevati gli indici di valutazione.
- T5: come nelle precedenti visite, è stata ripetuta l'analisi degli indici.
- T6: alla fine dell'ultima settimana prevista dal protocollo della sperimentazione, sono stati registrati un'ultima volta gli indici di valutazione ed è stata effettuata un'addizionale seduta di igiene orale professionale che ha incluso, come al tempo T-1, sia un'ablazione del tartaro sia un trattamento di polishing.

Studio istologico: analisi microscopica dei tessuti gengivali in pazienti con eruzione passiva alterata

Sono stati selezionati 5 pazienti con eruzione passiva alterata tra quelli giunti alla nostra osservazione presso il Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche e Maxillo Facciali (Sapienza Università di Roma), Reparto di Parodontologia, e che hanno partecipato anche allo studio clinico sulla gengivite sperimentale. I criteri di inclusione ed esclusione utilizzati per scegliere tali pazienti sono analoghi a quelli elencati prima, ai quali è stato aggiunto, come ulteriore parametro di inclusione, la richiesta esplicita da parte del paziente di un trattamento volto a migliorare l'aspetto estetico del proprio sorriso.

I pazienti con sorriso gengivale selezionati sono stati sottoposti a un intervento chirurgico che ha previsto la realizzazione di un lembo a riposizionamento apicale. È stata eseguita un'anestesia locale per infiltrazione con vasocostrittore (mepivacaina con adrenalina 1:100.000) a livello di ciascuno degli elementi dentari del sestante coinvolto. Con l'ausilio di una sonda parodontale millimetrata (PCP-15 UNC) è stata riportata la misura radiografica della corona anatomica di ciascun dente sull'elemento stesso ed è stata calcolata la differenza tra la lunghezza della corona anatomica e corona clinica. È stato così possibile creare dei punti di riferimento usati come guida per effettuare, tramite una lama da bisturi Bard-Parker n. 15C, un'incisione paramarginale posta mediamente circa 0,5 mm coronalmente alla CEJ e parallela a essa. È stata realizzata un'incisione intrasulculare per rimuovere la banda di gengiva aderente in eccesso precedentemente incisa. Il tessuto prelevato è stato, quindi, trasferito in un contenitore con all'interno formalina tamponata al 10% per la fissazione del frammento stesso. Ogni campione è stato prelevato in toto e orientato in modo da identificare l'epitelio gengivale e il tessuto connettivo sottostante. Ogni contenitore con il frammento tissutale fissato è stato successivamente inviato al Dipartimento di Biomedicina e Prevenzione dell'Università Tor Vergata di Roma per l'esame istologico. Presso questo Dipartimento i campioni sono stati processati e inclusi in paraffina per poter tagliare sezioni seriali colorate con ematossilina-eosina. Tali sezioni sono state, poi, analizzate al microscopio ottico (Nikon eclipse 1200, Tokyo, Japan) e sono state acquisite delle immagini tramite una telecamera digitale (Nikon, Tokyo, Japan). Partendo dall'incisione paramarginale tracciata inizialmente, è stato sollevato fino alla linea mucogengivale mediante uno scollaperiostio un lembo a tutto spessore in modo da scoprire l'osso alveolare sottostante. Dopo l'esposizione del tessuto osseo, è stata valutata la distanza della cresta alveolare rispetto alla CEJ: se minore di 1 mm, una resezione ossea è stata associata all'intervento chirurgico principale. Questa fase, realizzata con l'ausilio di una fresa diamantata a palla a grana fine/media montata su turbina,

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

si è resa indispensabile per ricreare un profilo osseo festonato e parallelo alla CEJ, per ottenere uno spazio di almeno 2 mm tra CEJ e cresta alveolare (consentendo il ripristino di un'ampiezza biologica ottimale) e per consentire il ricollocamento del margine gengivale alla giusta altezza. Dopo aver stabilito la corretta collocazione del margine gengivale, il lembo è stato riposizionato rispetto al livello originario e fissato in sede leggermente coronale alla CEJ apponendo punti staccati con suture 6-0. Per mezzo di questa procedura, è stato possibile realizzare una chiusura e una guarigione della ferita chirurgica per prima intenzione. I punti di sutura sono stati rimossi dopo almeno 7 giorni.

Al termine dell'intervento chirurgico sono state fornite ai pazienti alcune istruzioni da osservare nel periodo postoperatorio:

- effettuare sciacqui con collutorio a base di clorexidina allo 0,12% 2 volte al giorno per 2 settimane;
- assumere ibuprofene 400 mg per 2-4 volte al giorno, al bisogno;
- evitare le manovre di igiene orale e qualsiasi altro tipo di trauma nella zona interessata per 2 settimane;

Risultati

Analisi statistica dello studio clinico

Gli indici rilevati clinicamente per ciascuno dei 9 pazienti, sia del gruppo test sia del gruppo controllo, sono stati suddivisi tra lato in cui è stata indotta la gengivite sperimentale tramite l'uso della mascherina (lato A) e lato sottoposto a regolari manovre di igiene orale domiciliare (lato B). I dati sono riepilogati con media, mediana, deviazione standard e intervallo interquartile. Per valutare la differenza è stato utilizzato il log-rank test. Il livello di significatività statistica è 0,05 (tab. 1 e tab. 2). Sono stati, quindi, sottoposti ad analisi statistica e per i vari confronti tra i due gruppi è stato calcolato il valore di p al fine di determinare l'eventuale significatività statistica. Valori di p inferiori a 0,01 ($p \leq 0,01$) sono stati considerati statisticamente molto significativi, valori di p compresi tra 0,01 e 0,05 ($0,01 < p < 0,05$) sono stati considerati statisticamente significativi, mentre valori di p superiori a 0,05 ($p \geq 0,05$) sono stati considerati statisticamente non significativi.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

Tabella 1 – Valori statistici degli indici clinici relativi al gruppo caso (pazienti con APE)						
	Media	Mediana	Moda	Deviazione Standard	Minimo	Massimo
PIAT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
PIBT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
PIAT1	1,22	1,00	1	0,44	1	2
PIBT1	0,22	0,00	0	0,44	0	1
PIAT2	2,11	2,00	2	0,60	1	3
PIBT2	0,22	0,00	0	0,44	0	1
PIAT3	2,33	2,00	2	0,50	2	3
PIBT3	0,22	0,00	0	0,44	0	1
PIAT4	0,78	1,00	1	0,44	0	1
PIBT4	0,11	0,00	0	0,33	0	1
PIAT5	0,67	1,00	0	0,71	0	2
PIBT5	0,11	0,00	0	0,33	0	1
PIAT6	0,56	1,00	1	0,53	0	1
PIBT6	0,11	0,00	0	0,33	0	1
QHTAT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
QHTBT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
QHTAT1	3,00	3,00	3	0,71	2	4
QHTBT1	0,89	0,00	0	1,45	0	4
QHTAT2	4,22	4,00	5	0,83	3	5
QHTBT2	0,22	0,00	0	0,44	0	1
QHTAT3	4,67	5,00	5	0,50	4	5
QHTBT3	0,11	0,00	0	0,33	0	1
QHTAT4	1,56	1,00	0	1,67	0	4
QHTBT4	0,11	0,00	0	0,33	0	1
QHTAT5	1,22	1,00	0	1,72	0	5
QHTBT5	0,11	0,00	0	0,33	0	1
QHTAT6	1,22	1,00	0	1,64	0	4
QHTBT6	0,11	0,00	0	0,33	0	1
AngBSAT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
AngSBT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
AngBSAT1	0,78	1,00	1	0,67	0	2
AngSBT1	0,11	0,00	0	0,33	0	1
AngBSAT2	1,22	1,00	1	0,67	0	2
AngSBT2	0,00	0,00	0	0,00	0	0
AngBSAT3	1,78	2,00	2	0,44	1	2
AngSBT3	0,00	0,00	0	0,00	0	0
AngBSAT4	0,67	1,00	0	0,71	0	2
AngSBT4	0,00	0,00	0	0,00	0	0
AngBSAT5	0,44	0,00	0	0,53	0	1
AngSBT5	0,00	0,00	0	0,00	0	0
AngBSAT6	0,33	0,00	0	0,50	0	1
AngSBT6	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIAT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIBT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIAT1	1,00	1,00	1	0,50	0	2
mGIBT1	0,22	0,00	0	0,67	0	2
mGIAT2	1,89	2,00	2	1,05	0	3
mGIBT2	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIAT3	2,78	3,00	3	0,44	2	3

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

	Media	Mediana	Moda	Deviazione Standard	Minimo	Massimo
mGIBT3	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIAT4	1,22	1,00	1	0,83	0	3
mGIBT4	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIAT5	1,11	1,00	1	0,601	0	2
mGIBT5	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIAT6	0,67	1,00	0	0,71	0	2
mGIBT6	0,00	0,00	0	0,00	0	0
GCFAT0	0,10	0,08	0,06	0,04	0,06	0,18
GCFBT0	0,11	0,09	0,06	0,06	0,04	0,20
GCFAT1	0,18	0,19	0,09	0,06	0,09	0,26
GCFBT1	0,13	0,13	0,07	0,05	0,07	0,25
GCFAT2	0,28	0,23	0,13	0,19	0,13	0,78
GCFBT2	0,16	0,14	0,07	0,07	0,07	0,28
GCFAT3	0,33	0,25	0,20	0,17	0,20	0,69
GCFBT3	0,14	0,13	0,06	0,07	0,06	0,25
GCFAT4	0,21	0,09	0,05	0,23	0,05	0,70
GCFBT4	0,12	0,07	0,07	0,10	0,05	0,31
GCFAT5	0,15	0,13	0,07	0,13	0,07	0,49
GCFBT5	0,12	0,10	0,06	0,06	0,06	0,25
GCFAT6	0,11	0,09	0,04	0,07	0,04	0,26
GCFBT6	0,12	0,14	0,06	0,05	0,06	0,18

Tabella 2 - Valori statistici degli indici clinici relativi al gruppo controllo (pazienti senza APE)

	Media	Mediana	Moda	Deviazione Standard	Minimo	Massimo
PLAT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
PLBT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
PLAT1	1,44	1,00	1	0,73	1	3
PLBT1	0,00	0,00	0	0,00	0	0
PLAT2	1,56	2,00	2	0,53	1	2
PLBT2	0,11	0,00	0	0,33	0	1
PLAT3	2,22	2,00	2	0,44	2	3
PLBT3	0,11	0,00	0	0,33	0	1
PLAT4	0,78	1,00	1	0,44	0	1
PLBT4	0,00	0,00	0	0,00	0	0
PLAT5	0,56	1,00	1	0,53	0	1
PLBT5	0,22	0,00	0	0,44	0	1
PLAT6	0,33	0,00	0	0,50	0	1
PLBT6	0,00	0,00	0	0,00	0	0
QHTAT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
QHTBT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
QHTAT1	3,44	4,00	4	1,01	2	5
QHTBT1	0,00	0,00	0	0,00	0	0
QHTAT2	4,67	5,00	5	0,71	3	5
QHTBT2	0,11	0,00	0	0,33	0	1
QHTAT3	4,89	5,00	5	0,33	4	5
QHTBT3	0,11	0,00	0	0,33	0	1
QHTAT4	1,22	1,00	1	0,97	0	3
QHTBT4	0,00	0,00	0	0,00	0	0

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

	Media	Mediana	Moda	Deviazione Standard	Minimo	Massimo
QHTAT5	1,00	1,00	0	1,32	0	4
QHTBT5	0,33	0,00	0	0,71	0	2
QHTAT6	0,56	0,00	0	1,33	0	4
QHTBT6	0,00	0,00	0	0,00	0	0
AngBSAT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
AngBSBT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
AngBSAT1	0,11	0,00	0	0,33	0	1
AngBSBT1	0,00	0,00	0	0,00	0	0
AngBSAT2	0,22	0,00	0	0,44	0	1
AngBSBT2	0,00	0,00	0	0,00	0	0
AngBSAT3	0,67	1,00	1	0,50	0	1
AngBSBT3	0,00	0,00	0	0,00	0	0
AngBSAT4	0,11	0,00	0	0,33	0	1
AngBSBT4	0,00	0,00	0	0,00	0	0
AngBSAT5	0,11	0,00	0	0,33	0	1
AngBSBT5	0,00	0,00	0	0,00	0	0
AngBSAT6	0,00	0,00	0	0,00	0	0
AngBSBT6	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIAT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIBT0	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIAT1	0,78	1,00	1	0,44	0	1
mGIBT1	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIAT2	0,89	1,00	1	0,33	0	1
mGIBT2	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIAT3	1,33	1,00	1	0,50	1	2
mGIBT3	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIAT4	0,11	0,00	0	0,33	0	1
mGIBT4	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIAT5	0,11	0,00	0	0,33	0	1
mGIBT5	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIAT6	0,00	0,00	0	0,00	0	0
mGIBT6	0,00	0,00	0	0,00	0	0
GCFAT0	0,11	0,12	0,05	0,03	0,05	0,14
GCFBT0	0,11	0,10	0,12	0,03	0,07	0,15
GCFAT1	0,19	0,19	0,12	0,05	0,12	0,30
GCFBT1	0,11	0,10	0,13	0,03	0,08	0,16
GCFAT2	0,18	0,18	0,19	0,06	0,09	0,28
GCFBT2	0,10	0,11	0,02	0,05	0,02	0,15
GCFAT3	0,22	0,23	0,15	0,04	0,15	0,30
GCFBT3	0,10	0,08	0,07	0,04	0,05	0,18
GCFAT4	0,13	0,12	0,07	0,05	0,07	0,22
GCFBT4	0,11	0,12	0,08	0,03	0,08	0,17
GCFAT5	0,08	0,07	0,04	0,03	0,04	0,13
GCFBT5	0,07	0,07	0,03	0,04	0,03	0,15
GCFAT6	0,08	0,08	0,04	0,04	0,04	0,15
GCFBT6	0,08	0,06	0,03	0,05	0,03	0,16

I gruppi test e controllo sono stati paragonati in relazione all'accumulo di placca, al grado di infiammazione gengivale e al volume di fluido crevicolare gengivale. Per tali confronti sono

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

stati presi in considerazione soltanto i valori statistici relativi al lato A, poiché quelli riguardanti il lato B non hanno mostrato significative differenze tra i gruppi test e controllo.

Accumulo di placca: per quanto riguarda **PI**, non ci sono state importanti differenze tra i due gruppi ai diversi tempi dello studio ($p=0,436$). Al tempo T1, PI era $1,22 \pm 0,44$ nel gruppo test e $1,44 \pm 0,73$ nel gruppo controllo ($p=0,666$). Al tempo T3, PI era $2,33 \pm 0,50$ nel gruppo test e $2,22 \pm 0,44$ nel gruppo controllo ($p=0,113$). Al tempo T6, i valori di PI erano simili al tempo T0, cioè $0,56 \pm 0,53$ nel gruppo test e $0,33 \pm 0,50$ nel gruppo controllo.

Anche per quanto concerne **QHT**, non ci sono state differenze rilevanti tra i due gruppi ai vari tempi dello studio ($p=0,258$). Al tempo T1, QHT era $3,00 \pm 0,71$ nel gruppo test e $3,44 \pm 1,01$ nel gruppo controllo ($p=0,340$). Al tempo T3, QHT era $4,67 \pm 0,50$ nel gruppo test e $4,89 \pm 0,33$ nel gruppo controllo ($p=0,436$). Al tempo T6, QHT era $1,22 \pm 1,64$ nel gruppo test e $0,56 \pm 1,33$ nel gruppo controllo ($p=0,258$).

Infiammazione gengivale: per analizzare il grado di infiammazione gengivale sono stati valutati gli indici **AngBS** (fig.2) e **mGI** (fig.3). Al tempo T1 tutti i parametri clinici relativi alle condizioni gengivali erano similmente bassi in entrambi i gruppi test e controllo: AngBS era $0,78 \pm 0,67$ nel gruppo test e $0,11 \pm 0,33$ nel gruppo controllo ($p=0,05$ al limite della significatività statistica); mGI era $1,00 \pm 0,50$ nel gruppo test e $0,78 \pm 0,44$ nel gruppo controllo ($p=1,00$ il massimo della non significatività statistica). Al tempo T3, che rappresenta il momento di massimo accumulo di placca, sono state registrate differenze statisticamente significative tra i due gruppi relativamente agli indici di infiammazione gengivale: AngBs era $1,78 \pm 0,44$ nel gruppo test e $0,67 \pm 0,50$ nel gruppo controllo ($p=0,002$ statisticamente molto significativo); mGI era $2,78 \pm 0,44$ nel gruppo test e $1,33 \pm 0,50$ nel gruppo controllo ($p=0,002$). Alla risoluzione della gengivite sperimentale (T6), la differenza tra gli indici infiammatori era insignificante: AngBS era $0,33 \pm 0,50$ nel gruppo test e $0,00$ nel gruppo controllo ($p=0,206$); mGI era $0,67 \pm 0,71$ nel gruppo test e $0,00$ nel gruppo controllo ($p=0,029$).

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

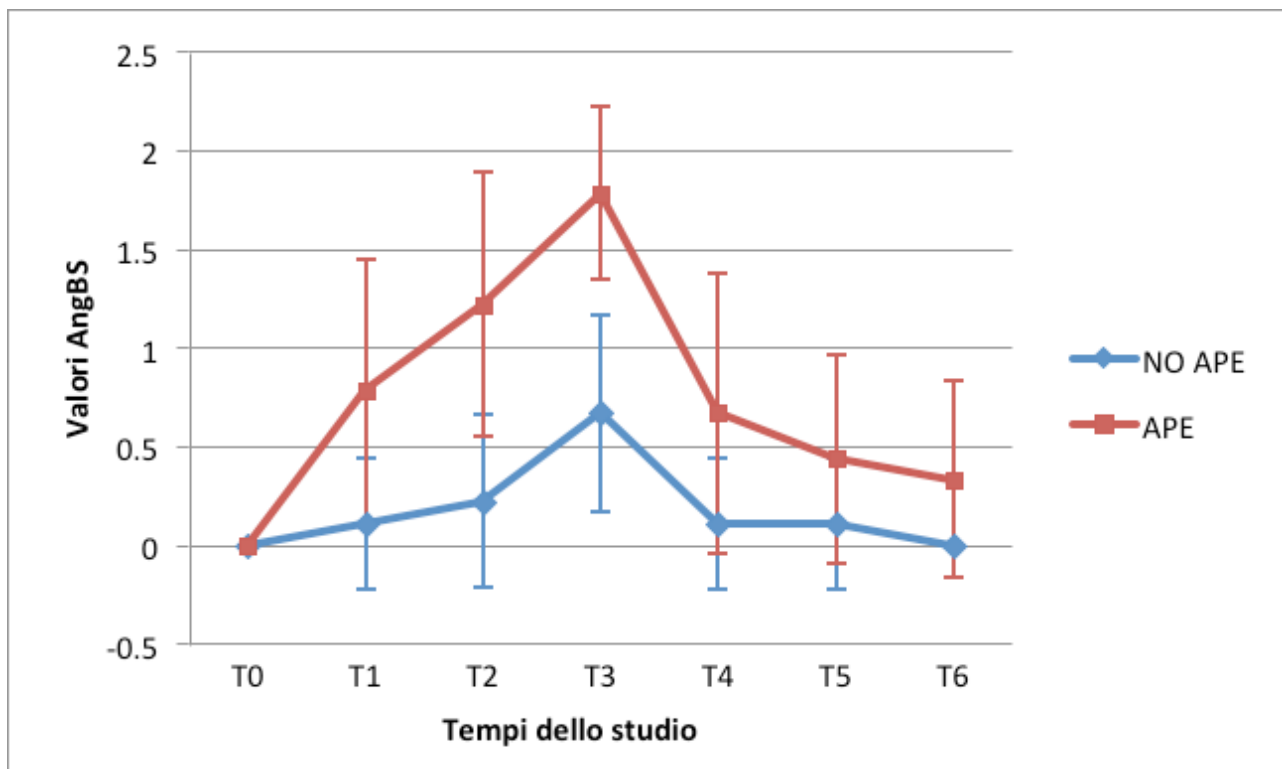


Fig.2 Variazione di AngBS sui pazienti con e senza APE

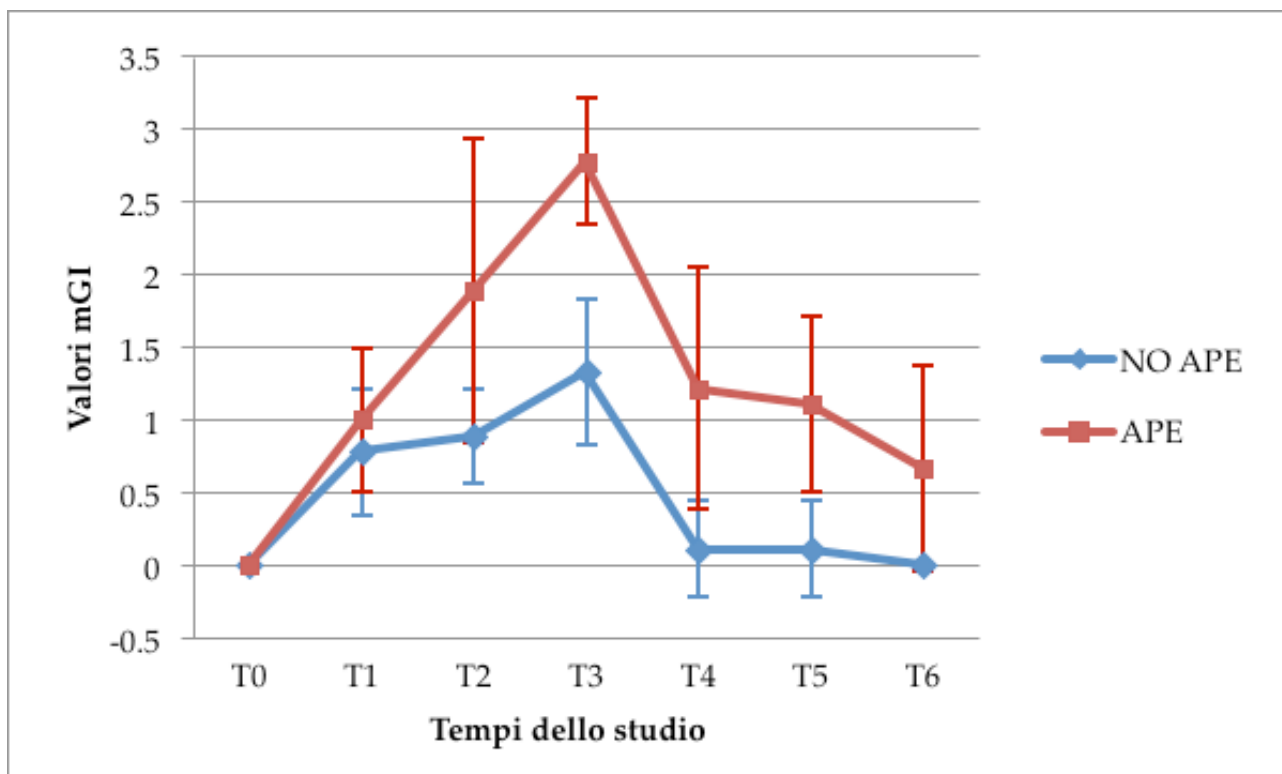


Fig.3 Variazione di mGI sui pazienti con e senza APE

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

Fluido crevicolare gengivale (μl): tra il tempo T1 e il tempo T3 GCF è variato da $0,18 \pm 0,06$ a $0,33 \pm 0,17$ nel gruppo test e da $0,19 \pm 0,05$ a $0,22 \pm 0,04$ nel gruppo controllo. Nel picco di accumulo di placca e di infiammazione (T3) la differenza tra i due gruppi non era statisticamente significativa ($p=0,057$). Al termine dello studio, erano simili in entrambi i gruppi: infatti, al tempo T6, GCF era $0,11 \pm 0,07$ nel gruppo test e $0,08 \pm 0,04$ nel gruppo controllo, valori simili a quelli del tempo T0, ossia $0,10 \pm 0,06$ nel gruppo test e $0,11 \pm 0,03$ nel gruppo controllo ($p=1,00$).

Esame microscopico dello studio istologico

Dall'insieme delle analisi istologiche è stato possibile notare che tutti i pazienti tranne uno presentavano aspetti microscopici di una gengivite cronica di diverso grado di gravità.

Andando a esaminare l'epitelio del solco gengivale (fig. 4 A), sono stati evidenziati segni tipici di infiammazione acuta (fig. 4 B) tra cui spongiosi, esocitosi neutrofila e, nei casi più gravi, vere ulcerazioni (fig. 4 C) con esposizione della sottostante lamina propria contenente tessuto flogistico di granulazione. L'epitelio gengivale circostante mostrava aspetti di iperplasia reattiva con allungamento della rete ridges e acantosi. A ciò si associava la presenza dell'infiltrato infiammatorio cronico linfo-plasmacellulare anche in questo caso con diversi gradi di intensità (da sparso perivascolare a diffuso a intenso)

Per quanto riguarda il collagene, le fibre mantenevano un orientamento normale per quanto noto in letteratura. Dividendo il tessuto subepiteliale in due porzioni principali (fig. 5 A), una superficiale e una profonda, le fibre collagene erano più dense nella parte profonda con un andamento parallelo all'epitelio gengivale da cui si distaccavano le fibre superficiali meno dense (meno numerose e più sottili) con un andamento a “raggera” rispetto l'osso alveolare e la radice ma perpendicolari all'epitelio di rivestimento gengivale (fig. 5 B).

Aspetti particolari delle fibre collagene dei pazienti in esame sono risultati essere l'aumento del numero e della dimensione (dovuto a una sostanziale sclerotizzazione) delle fibre collagene profonde (fig. 5 C) e la minore lassità di quelle superficiali (fig. 5 D).

Le caratteristiche microscopiche emerse dagli esami istologici dei frammenti gengivali prelevati in questo studio confermano l'ipotesi della presenza di un traumatismo cronico in soggetti affetti da eruzione passiva alterata, associato ai segni istologici di gengivite cronica stabile plasmacellulare.

Inoltre, si può ipotizzare che l'eccesso di gengiva aderente evidenziabile clinicamente in individui con eruzione passiva alterata derivi sia da un'anomalia anatomica sia da un vero aumento di fibre collagene del tessuto connettivo (anche in assenza di un'iperplasia gengivale propriamente detta) sostenuto da un'irritazione cronica non necessariamente associata a placca batterica. Tuttavia, non è attualmente possibile stabilire se tale aumento delle fibre collagene sia dovuto solo a irritazione cronica o anche a un'anomala funzione dei fibroblasti, a un'alterazione degli enzimi preposti alla degradazione delle fibre stesse (proteasi e metalloproteinasi), a difetti dei meccanismi di inibizione di tali enzimi (inibitori delle metalloproteinasi o TIMP) oppure a una combinazione di due o più di questi fattori.

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

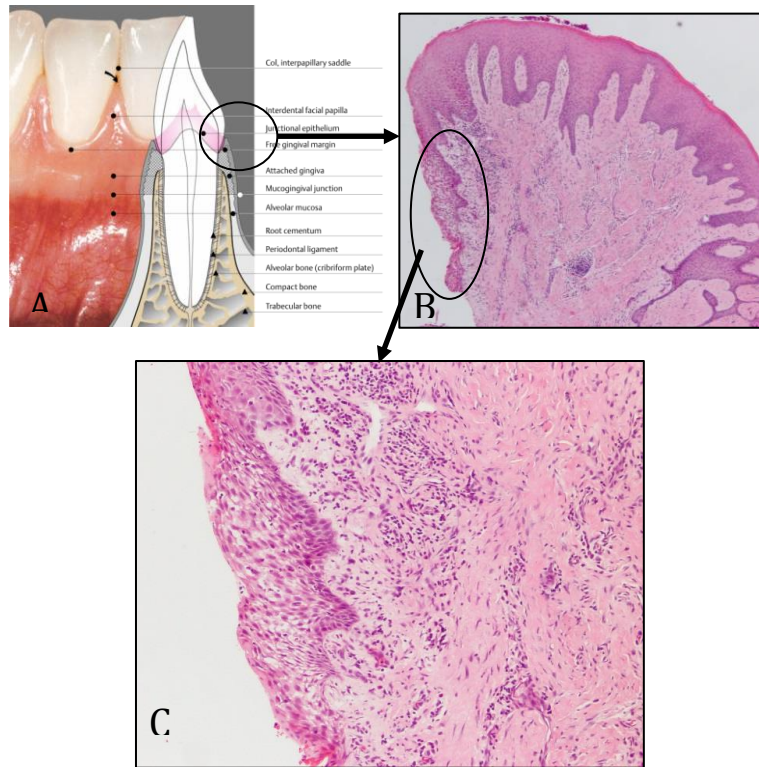
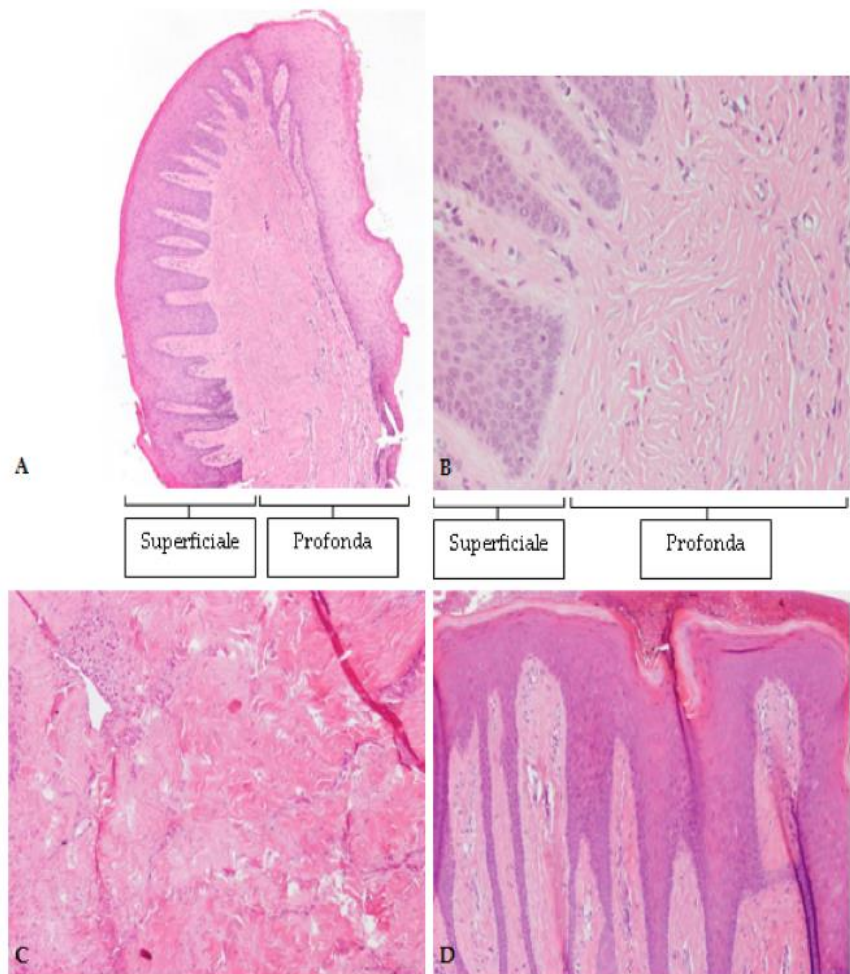


Fig.4. Spiegazione nel testo

Fig.5. Spiegazione nel testo



SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

Conclusione

Nel nostro studio clinico sulla gengivite sperimentale è risultato che tra i pazienti con eruzione passiva alterata (gruppo test) e quelli con una normale anatomia gengivale (gruppo controllo) non ci sono importanti differenze per quanto riguarda la modalità di accumulo di placca e la quantità della stessa. Se i pazienti con eruzione passiva alterata osservano una scrupolosa igiene orale possono mantenere la salute gengivale esattamente come i pazienti privi di tale anomalia morfologica. Tuttavia, in caso di accumulo di placca, l'eruzione passiva alterata sembra rappresentare un fattore predisponente allo sviluppo della gengivite con più rapida progressione e indici di infiammazione (AngBS e mGI) più elevati. Infatti, al tempo T3, che rappresenta il momento di massimo accumulo di placca, dal confronto di questi indici relativi ai gruppi caso e controllo è risultata una differenza statisticamente significativa ($p=0,002$). C'è da notare, però, che nonostante l'importante infiammazione gengivale, anche i pazienti con eruzione passiva alterata sembrano rispondere in maniera ottimale alla terapia (che prevede regolari e attente manovre di igiene orale domiciliare e l'igiene orale professionale), tanto che al tempo T6 (termine della sperimentazione) le differenze negli indici infiammatori tra i due gruppi erano prive di significatività ($p=0,206$ per AngBS). Malgrado ciò, mentre i pazienti del gruppo controllo risultavano tutti completamente guariti dalla gengivite sperimentale, alcuni dei pazienti con eruzione passiva alterata continuavano a mostrare qualche segno di infiammazione gengivale ($p=0,029$ per mGI).

Da quanto affermato finora, è possibile evincere che soggetti con eruzione passiva alterata presentano un rischio maggiore di insorgenza di patologia gengivale e, quindi, verosimilmente anche parodontale, soprattutto nei casi in cui ci sia già un'alta predisposizione allo sviluppo di una tale problematica.

Valutando contemporaneamente i risultati del nostro studio clinico e del nostro studio istologico, è interessante notare come anche i pazienti affetti da eruzione passiva alterata che al tempo T6 dello studio clinico e immediatamente prima dell'intervento chirurgico effettuato nello studio istologico non presentavano segni clinici di gengivite, hanno mostrato, invece, segni di infiammazione acuta o cronica a livello microscopico.

Dai risultati del nostro studio istologico, dunque, vista l'infiammazione cronica, è possibile ritenere giustificato il trattamento chirurgico dell'eruzione passiva alterata. Tale trattamento andrebbe così non solo a risolvere le problematiche estetiche associate al sorriso gengivale che caratterizza questa condizione patologica ma anche a ridurre il traumatismo cronico che attualmente sembra essere alla base della predisposizione alla patologia gengivale e/o parodontale dei soggetti affetti da APE o, comunque, sembra sostenere nel tempo la gengivite cronica e la deposizione delle fibre collagene.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

Bibliografia

1. Volchansky A, Cleaton-Jones PE. Delayed passive eruption. A predisposing factor to Vincent's infection? *J Dent Asso S Africa* 1974;29:291-294.
2. Alpiste-Illueca F. Altered passive eruption (APE): A little-known clinical situation. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011 Jan 1;16(1):e100-1041.
3. Alpiste-Illueca F. Morphology and dimensions of the dentogingival unit in the altered passive eruption. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2012 Sep 1;17(5):e814-e820.
4. Volchansky A, Cleaton-Jones P. Clinical crown height (length) – a review of published measurements. *J Clin Periodontol* 2001;28:1085-1090.
5. Volchansky A, Cleaton-Jones P. Clinical definition of altered passive eruption. *Br Dent J*. 1979;147:292.
6. Evian C, Cutter S, Rosenberg E. Altered passive eruption: the undiagnosed entity. *J Am Dent Assoc*. 1993;124:107-110.
7. Rossi R, Brunelli G, Piras V, Pilloni A. Altered passive eruption and familial trait: a preliminary investigation. *Int J Dent*. 2014;2014:874092.
8. Dolt AH, Robbins JW. Altered passive eruption: an etiology of short clinical crowns. *Quintessence Int*. 1997;28:363-372.
9. Silva CO, Soumaille JMS, Marson FC, Progiante PS, Tatakis DN. Aesthetic crown lengthening: periodontal and patient-centred outcomes. *J Clin Periodontol*. 2015;42:1126-1134.
10. Robbins JW. Differential diagnosis and treatment of excess gingival display. *Pract Periodontics Aesthet Dent*. 1999;11:265-272
11. Sterrett JD, Oliver T, Robinson F, Fortson W, Knaak B, Russell CM. Width/length ratios of normal clinical crowns of the maxillary anterior dentition in man. *J Clin Periodontol*. 1999;26:153-157.
12. Rossi R, Benedetti R, Santos-Morales RI. Treatment of altered passive eruption: periodontal plastic surgery of the dentogingival junction. *Eur J Esthet Dent*. 2008;3:212-223.
13. Coslet JG, Vanarsdall R, Weisgold A. Diagnosis and classification of delayed passive eruption of the dentogingival junction in the adult. *Alpha Omegan*. 1977 Dec;70(3):24-28.
14. Dello Russo NM. Placement of crown margins in patients with altered passive eruption. *Int J Periodon Rest Dent* 1994; 4(1):59- 65.
15. Wolffe GN, van der Weijden FA, Spanauf AJ, de Quincey ON. Lengthening clinical crowns - A solution for specific periodontal, restorative, and esthetic problems *Quintessence Int* 1994; 25; 81-88.
16. Silness, J. & Loe, H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontologica Scandinavica* 1964, 22, 121-135.
17. Quigley, G. A. & Hein, J. W. Comparative cleansing efficiency of manual and power brushing. *Journal of the American Dental Association* 1962, 65, 26-29.
18. Trombelli L, Tatakis DN, Scapoli C, Bottega S, Orlandini E, Tosi M: Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. II. Identification of “highresponder” and “low-responder” subjects. *J Clin Periodontol* 2004; 31: 239-252.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

MORBILITÀ DELLA ELEVAZIONE DEL PAVIMENTO DEL SENO MASCELLARE CON ACCESSO TRANSCRESTALE E LATERALE: STUDIO RANDOMIZZATO MULTICENTRICO

Giovanni Franceschetti¹, Roberto Farina^{1,2}, Domenico Travaglini^{3,4}, Ugo Consolo^{3,4}, Luigi Minenna², Gian Pietro Schincaglia^{2,5}, Orio Riccardi^{2,6}, Alberto Bandieri^{3,4}, Elisa Maietti⁷, Leonardo Trombelli^{1,2}

¹Unità Operativa di Odontoiatria, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Ferrara; ²Centro di Ricerca e Studio delle Malattie Parodontali e Peri-implantari, Università di Ferrara; ³Unità Operativa di Odontoiatria e Chirurgia Maxillo-facciale, Dipartimento di Attività Integrate - Chirurgie Specialistiche, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Modena; ⁴Dipartimento di Chirurgie Specialistiche della testa e del collo, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Modena e Reggio-Emilia; ⁵ Department of Periodontics, School of Dentistry, West Virginia University, Morgantown WV, (USA); ⁶Liberò professionista in Torre Pedrera, Rimini; ⁷Centro di Epidemiologia Clinica, Università di Ferrara

Riassunto

Obiettivo: confrontare la morbilità post-operatoria di interventi di rialzo di seno mascellare con approccio transcrestale (tSFE) o laterale (lSFE) e concomitante inserimento implantare.

Materiali e metodi: lo studio multicentrico, randomizzato, a gruppi paralleli è stato condotto su pazienti con ≥ 1 sito mascellare posteriore edentulo con altezza ossea residua (RBH) di 3÷6 mm. tSFE (eseguito con tecnica *Smart Lift*) è stato associato a biomateriale eterologo e matrice collagenica; lSFE è stato associato a biomateriale eterologo e l'antrosotomia è stata protetta con membrana riassorbibile. L'inserimento implantare è avvenuto contestualmente alle procedure di rialzo. Il decorso post-operatorio è stato valutato mediante questionari, il livello di dolore (VAS_{pain}) mediante scala analogica visiva di 100 mm, compilati dal paziente.

Risultati: Ventisette pazienti hanno completato lo studio nel gruppo tSFE, 28 nel lSFE. Non sono state rilevate differenze significative inter-gruppo in termini di incidenza di perforazione di membrana, VAS_{pain} e dose di analgesici assunti dal paziente. Rispetto a lSFE, tSFE è stato caratterizzato da significativamente minori: tempo alla poltrona, limitazioni nell'eseguire attività quotidiane o aprire la bocca, incidenza di gonfiore, lividi e sanguinamento/secrezione nasale.

Conclusioni: In siti posteriori mascellari con altezza ossea residua di 3-6 mm, tSFE sembra presentare vantaggi (minori tempo alla poltrona e morbilità) rispetto a lSFE.

Introduzione

Nel seno mascellare posteriore edentulo, l'intervento di rialzo del pavimento del seno mascellare, con approccio laterale (lSFE) o transcrestale (tSFE), rappresenta una valida opzione chirurgica per aumentare in senso verticale la quantità di osso disponibile (Lundgren et al. 2017). Tale tecnica consente di ottenere sostanziali rialzi verticali della cresta ossea

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

residua associati ad alti tassi di sopravvivenza implantare (Pjetursson et al. 2008, Tan et al. 2008, Del Fabbro et al. 2012, 2013, Corbella et al. 2015).

Diversi studi clinici hanno dimostrato come tSFE e lSFE siano procedure efficaci in termini di risultati clinici (Zitzmann & Schärer 1998, Krenmair et al. 2007, Jurisic et al. 2008, Cannizzaro et al. 2009, Tetsch et al. 2010, Kim et al. 2011, Al-Almaie et al. 2013, Yu et al. 2017, Temmerman et al. 2017), ma come si associno a livelli diversi di morbilità post-operatoria. Dai dati di tali studi, però, non è possibile confrontare in maniera chiara le due procedure, perché nessuno di questi studi è stato strutturato con disegno randomizzato, né ha eseguito confronti in condizioni sperimentali simili, (es., altezza ossea residua dei siti trattati, numero di impianti inseriti per paziente, protocollo di guarigione sommerso o transmucoso).

Scopo del presente studio clinico controllato randomizzato è stato, pertanto, confrontare la morbilità post-operatoria di procedure tSFE e lSFE con contestuale inserimento implantare, in creste alveolari di altezza ridotta (i.e. tra 3 e 6 mm).

Materiali e metodi

Disegno sperimentale

Il presente è uno studio clinico bicentrico, randomizzato, a gruppi paralleli, in singolo cieco. Lo studio è parte di un progetto di ricerca più ampio, avente lo scopo di confrontare tSFE e lSFE sotto diversi aspetti, quali sopravvivenza impiantare, esiti radiografici, rapporto costo-beneficio e qualità di vita del paziente. Il protocollo sperimentale è stato preparato in accordo con le linee guida per la stesura degli studi clinici randomizzati controllati (CONSORT) (<http://www.consort-statement.org/>) ed è stato registrato nel sito www.clinicaltrials.gov (study ID: NCT02415946). Il protocollo sperimentale è stato approvato dal Comitato Etico Locale di Ferrara (numero protocollo: 140386) e di Modena-Reggio Emilia, Italia (numero protocollo: 144/14). Ogni paziente ha fornito consenso informato scritto prima della partecipazione allo studio.

Popolazione di studio

I pazienti sono stati selezionati in 2 centri ospedaliero-universitari (Ferrara e Modena, Italia) in accordo con i criteri di inclusione/esclusione elencati in tabella 1, e sono stati trattati presso gli stessi centri. Qualora un paziente avesse presentato due sestanti posteriori mascellari eligibili per lo studio, uno dei due è stato selezionato in modo casuale per lo studio.

Assegnazione del trattamento e occultamento dell'assegnazione

Ogni paziente è stato assegnato al gruppo tSFE o lSFE in base ad una lista di randomizzazione generata da un computer. Quest'ultima è stata elaborata in maniera tale da bilanciare la distribuzione dei pazienti nei due centri e nei due gruppi in termini di trattamento sperimentale e numero di impianti inseriti per paziente. L'assegnazione di ogni paziente al trattamento è stata trasferita all'operatore mediante busta sigillata, da aprire dopo la visita di screening iniziale. Gli esaminatori sono stati mantenuti ciechi in merito al trattamento assegnato.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Procedure sperimentali

Procedure pre-chirurgiche (settimana -12 / -1)

Tutti i trattamenti restaurativi, endodontici e parodontali sono stati eseguiti prima del trattamento sperimentale. Ogni paziente si è sottoposto a tomografia computerizzata con mascherina radiologica. Ad ogni paziente è stata prescritta una pre-terapia antibiotica 1 ora prima dell'inizio della procedura chirurgica.

Procedure chirurgiche (giorno 0)

Le procedure chirurgiche sono state eseguite da operatori esperti in procedure di rialzo di seno mascellare (L.T., O.R., R.F., G.F., L.M., G.P.S., D.T.).

L'accesso alla cresta ossea (gruppo tSFE) o alla parete laterale del seno (gruppo lSFE) è stato ottenuto mediante sollevamento di lembo a spessore totale. L'eventuale esecuzione di una o più incisioni di rilascio è stata lasciata a discrezione dell'operatore.

Nel gruppo tSFE, il sito implantare è stato preparato secondo la sequenza di strumenti *Smart Lift* (Trombelli et al. 2008, 2010a,b, 2012, 2014, 2015, Franceschetti et al. 2014, 2015, 2017). Dopo aver inserito una matrice collagenica (Mucograft Seal®; Geistlich Pharma, AG, Wolhusen, Switzerland), una carota ossea creata dalla fresa *Smart Lift Drill* è stata condensata e sospinta all'interno del seno mascellare mediante osteotomo *Smart Lift Elevator*. L'eventuale perforazione di membrana è stata valutata mediante manovra di Valsalva e, se quest'ultima risultava negativa, un biomateriale a base di minerale di osso bovino deproteneizzato (DBBM; Bio-Oss® granuli 0.25-1.0 mm; Geistlich Pharma, AG, Wolhusen, Switzerland) è stato inserito nel sito in quantità correlata all'entità di penetrazione implantare all'interno del seno mascellare (Trombelli et al. 2014). In caso di manovra di Valsalva positiva, l'inserimento della matrice collagenica (Mucograft Seal®; Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) e, successivamente, la manovra di Valsalva sono stati ripetuti. Se quest'ultima risultava negativa, procedura sperimentale e inserimento implantare venivano portati a termine; in caso contrario, procedura e inserimento implantare venivano posticipati di 4 mesi dalla chirurgia ed il paziente veniva escluso dallo studio.

Nel gruppo lSFE, sono stati lasciati alla discrezionalità dell'operatore: tipo di strumenti utilizzati per ottenere l'accesso laterale al seno mascellare (i.e., frese diamantate rotanti, strumenti piezo-elettrici o combinazione di entrambi); modalità di apertura della finestra ossea (i.e., mediante abrasione completa, rimozione o introflessione della corticale della parete laterale del seno); dimensione della finestra ossea; granulometria (0.25-1.0 mm oppure 1.0-2.0mm) e quantità di DBBM (Bio-Oss® granuli 0.25-1.0 mm o 1-2 mm; Geistlich Pharma, AG, Wolhusen, Switzerland). DBBM è stato inserito all'interno del seno macellare immediatamente dopo aver sollevato la membrana sinusale. La preparazione del sito implantare è stata eseguita in accordo con la sequenza di frese indicate dalla azienda produttrice (Thommen Medical AG; Grenchen, Switzerland). La antrostomia è stata protetta con membrana riassorbibile in collagene (Bio-Gide; Geistlich Pharma, AG, Wolhusen, Switzerland). In caso di perforazione di membrana di tipo I o IIa (Fugazzotto & Vlassis, 2003), questa è stata trattata secondo Fugazzotto & Vlassis (2003) e sia la procedura sperimentale che l'inserimento implantare sono stati portati a termine; in caso di perforazione di membrana di tipo IIb o III secondo Fugazzotto & Vlassis (2003), l'inserimento implantare è stato differito a 9 mesi dalla chirurgia ed il paziente è stato escluso dallo studio.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

In entrambi i gruppi, gli impianti (SPI Inicell Element®; Thommen Medical AG, Grenchen, Switzerland) sono stati inseriti immediatamente dopo la procedura sperimentale. Il protocollo di guarigione (sommerso o trans-mucoso) è stato lasciato a discrezione dell'operatore. I lembi sono stati suturati con Vycril® (Ethicon, Sommerville, NY).

Procedure post-chirurgiche

Immediatamente dopo la procedura di elevazione del seno mascellare, i pazienti del gruppo ISFE hanno ricevuto una singola iniezione intra-muscolare di 8 mg di desametasone (Decadron® 8mg, VISUFARMA S.p.A., Rome, Italy) nel massetere omolaterale alla procedura chirurgica.

A tutti i pazienti è stato prescritto il seguente protocollo post-operatorio: astensione dalle procedure di igiene orale domiciliare nell'area chirurgica per 2 settimane; collutorio a base di clorexidina 0.2% con anti-discoloration system e acido ialuronico (Curasept ADS Trattamento Rigenerante®; Curaden Healthcare, Saronno, Italy) (3 sciacqui/die per 14 giorni); antinfiammatorio (ibuprofene 600 mg), 1 compressa dopo la chirurgia e *pro re nata* nei giorni seguenti. I pazienti hanno continuato lo stesso regime antibiotico adottato per la pre-medicazione. Le suture sono state rimosse 2 settimane dopo la chirurgia.

Gli impianti inseriti con guarigione sommersa al giorno 0 sono stati scoperti chirurgicamente a 20 settimane dalla chirurgia. La protesi è stata realizzata e inserita tra la settimana +24 e la settimana +32.

Misure di esito

Complicanze post-chirurgiche

Durante il follow-up è stata registrata ogni eventuale comparsa di complicanze post-chirurgiche associate alla procedura sperimentale, quali: fallimento implantare precoce, vertigine benigna posizionale parossistica (BPPV), infezioni od emorragie post-operatorie.

Variabili di esito correlate al paziente

Mediante compilazione di questionari da parte del paziente, sono state valutate diverse variabili caratterizzanti il decorso post-operatorio:

- livello di dolore (VAS_{pain}): registrato ogni sera dal giorno 0 al giorno +14, su scala analogica visiva (VAS) lunga 100 mm con valori da “0 - no dolore” a “100 - massimo dolore immaginabile”;
- dosaggio di antinfiammatorio assunto *pro re nata* dal paziente: registrato quotidianamente dal paziente come numero di compresse di Ibuprofene 600 mg, oltre ad eventuali altri farmaci assunti dal paziente, dal giorno 0 al giorno +14;
- livello di disagio: registrato alla sera dei giorni 0, +1, +2, +3, +4, +7, +14 su scala a 5 punti con valore minimo “nessun disagio” e valore massimo “disagio molto elevato”;
- limitazioni nell'eseguire attività quotidiane (i.e., deglutire, respirare, eseguire attività quotidiane, mangiare, parlare, aprire la bocca): registrate alla sera dei giorni 0, +1, +2, +3, +4, +7, +14 su scala a 5 punti con valore minimo “nessuna limitazione” e valore massimo “estremamente difficile” (nella voce “mangiare” il valore massimo è stato “incapacità a mangiare moltissimi tipi di cibo”);
- incidenza di sintomi o segni clinici post-operatori (i.e., gonfiore, nausea, ematoma, secrezione/sanguinamento nasale, ostruzione del flusso di aria dalla narice dominante,

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

- cattivo sapore od odore): riportati, come presente/assente, nei giorni 0, +1, +2, +3, +4, +7, +14;
- volontà di ripetere nuovamente lo stesso tipo di intervento chirurgico: riportato al giorno +14 su scala a 4 punti con valore minimo “nessun problema a ripetere l'intervento se necessario” e valore massimo “non ripeterei mai più questo tipo di intervento”.

Analisi statistica

Potenza statistica

Il calcolo della numerosità campionaria del progetto, di cui questo studio è parte, è stata basata su una misura di esito radiografica non riportata nel presente lavoro. Pertanto, i dettagli relativi al calcolo della numerosità campionaria non sono stati riportati. Per il presente studio, VAS_{pain} è stata considerata misura di esito primaria e la potenza statistica dello studio è stata verificata con un calcolo *post-hoc*. Sulla base di dati non pubblicati dello studio di Temmerman et al. (2017) sul livello di dolore valutato con VAS 100 mm a distanza di 4 ore dalla chirurgia (deviazione standard per ISFE: 16.6; deviazione standard per tSFE: 29.79), un campione di 27 soggetti in ciascun gruppo di trattamento mostra una potenza di 96.8% nell'identificare una differenza attesa in VAS_{pain} tra i gruppi di 25 con un test a due code e un α di 0.05.

Analisi statistica inferenziale e descrittiva

Il paziente è stato considerato unità statistica. L'analisi è stata condotta sulla popolazione *per protocol*. In caso di pazienti riabilitati con più di un impianto sperimentale, tutti i siti sperimentali sono stati inclusi nell'analisi ed il valore RBH, così come le dimensioni implantari (diametro e lunghezza), sono stati mediati per ottenere un singolo valore rappresentativo del paziente. Avendo tutte le variabili considerate una distribuzione non-normale e non-simmetrica, i dati sono stati espressi come mediana e intervallo interquartile (IR) e sono stati effettuati test statistici non-parametrici per i confronti intra- e inter-gruppo. Nella fattispecie, confronti inter-gruppo sono stati effettuati con il test esatto di Fisher, il test χ^2 e il test U di Mann-Whitney; confronti intra-gruppo con test di Friedman, seguito da test di Wilcoxon. Il livello di significatività statistica è stato fissato a 0.05 ed è stata applicata la correzione di Bonferroni.

Risultati

Popolazione di studio

Gli interventi chirurgici sono stati effettuati tra marzo 2015 e dicembre 2016. La popolazione studio *per protocol* è stata composta da 27 pazienti (23 riceventi 1 impianto e 4 riceventi 2 impianti adiacenti) nel gruppo tSFE e 28 pazienti (23 riceventi 1 impianto e 5 riceventi 2 impianti adiacenti) nel gruppo ISFE (Figura 1). Non sono state rilevate differenze inter-gruppo in termini di età, sesso e fumo (Tabella 2).

Aspetti chirurgici delle procedure sperimentali

RBH era 4.5 (IR: 4.0 - 5.3) mm e 4.1 (IR: 4.0 - 4.4) mm nel gruppo tSFE e ISFE, rispettivamente ($p = 0.151$) (Tabella 2). Gli aspetti chirurgici di tSFE e ISFE sono riportati in Tabella 3. La dimensione della finestra ossea nel gruppo ISFE era 7.0 (IR: 6.0 - 8.0) mm (altezza apico-coronale) x 10.0 (IR: 9.0 - 12.5) mm (larghezza mesio-distale). Quando confrontato con tSFE, ISFE si associava a: uso più frequente di incisioni di rilascio ($p = 0.002$); maggiore dose di anestetico (3.0 fiale, IR: 2.0 - 4.0 vs 2.0 fiale, IR: 2.0 - 2.8) ($p = 0.002$); maggiore quantità di DBBM inserito nel sito (1975.0 mg, IR: 1450.0 - 2500.0 vs 420.0 mg, IR: 350.0 - 500.0) (p

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

<0.001); maggiore durata dell'intera procedura chirurgica (86.0 minuti, IR: 65.8 - 98.0 vs 54.0 minuti, IR:45.5 - 60.5) ($p < 0.001$); maggiore durata della procedura SFE (54.5 minuti, IR: 39.8 - 65.0 vs 32.0 minuti, IR: 24.0 - 38.0) ($p < 0.001$) (Tabella 3). La lunghezza implantare era 9.5 (IR: 9.5 - 11.0) mm e 9.5 (IR: 9.5 - 11.0) mm nel gruppo tSFE e lSFE, rispettivamente ($p = 0.188$) (Tabella 2).

Complicanze post-chirurgiche

Nel gruppo tSFE, 1 impianto è stato rimosso immediatamente dopo il posizionamento per mancanza di stabilità primaria; in un altro paziente, 1 impianto è stato rimosso 2 mesi dopo l'inserimento per mancata osteointegrazione. Quando tali complicanze sono state raggruppate, non è stata osservata alcuna differenza significativa, in termini di incidenza, tra i due gruppi di trattamento ($p = 0.491$). In entrambi i casi, il paziente è stato trattato reinserendo un impianto di uguali dimensioni 6 mesi dopo il fallimento, senza necessità di eseguire un'ulteriore procedura di ricostruzione ossea. Le radiografie periapicali a 6 mesi dall'intervento hanno mostrato che, in tutti i casi, a 6 mesi dall'inserimento implantare la porzione endosinusale dell'impianto era completamente circondata da un'area radiopaca. A 6 mesi tutti gli impianti sono stati caricati protesicamente con successo.

L'incidenza di perforazione della membrana sinusale nel gruppo tSFE ($n = 2$; 7.4%) non si è dimostrata significativamente diversa da quella del gruppo lSFE ($n = 5$; 17.9%) ($p = 0.422$). Nel gruppo lSFE, 3 perforazioni sono state di tipo I, 2 perforazioni di tipo IIa (Fugazzotto & Vlassis 2003). In entrambi i gruppi, tali complicanze sono state trattate e la procedura di rialzo di seno mascellare così come l'inserimento impiantare sono stati portati a termine.

Nel gruppo lSFE, 1 paziente ha manifestato enfisema sub-cutaneo orbitale e periorbitale (OPE), insorto poche ore dopo l'intervento chirurgico dopo soffiamento del naso. OPE e la sua gestione sono stati descritti in dettaglio in un recente case-report (Farina et al., 2016); la risoluzione completa è avvenuta a 10 giorni dall'insorgenza.

Variabili di esito correlate al paziente

Non è stato trovato alcun effetto del centro o del trattamento (Figura 2) su VAS_{pain} , mentre si è osservato un effetto significativo del tempo ($p < 0.001$). VAS_{pain} è significativamente diminuito rispetto ai valori post-intervento dal giorno +1 nel gruppo tSFE e dal giorno +7 nel gruppo lSFE (Figura 2). Il numero totale di analgesici assunti dal paziente durante le prime 2 settimane post-operatorie è stato 2.0 (IR: 1.0 - 3.5) compresse nel gruppo tSFE e 3.5 (IR: 1.0 - 6.3) compresse nel gruppo lSFE ($p = 0.398$). Un numero significativamente maggiore di analgesici è stato assunto al giorno 0 dai pazienti del gruppo tSFE rispetto al gruppo lSFE ($p = 0.047$) (Tabella 4). Tra i due gruppi è stata rilevata una simile distribuzione dei pazienti in base al disagio postoperatorio (Figura 3a).

La distribuzione dei pazienti in base alle limitazioni post-operatorie nello svolgimento delle attività quotidiane, alla presenza di sintomi ed alla volontà di sottoporsi nuovamente allo stesso intervento chirurgico è riportata nelle figure 3b, 3c e 3d, rispettivamente. Nel gruppo tSFE, è stata osservata minore limitazione, rispetto a lSFE, nel continuare le normali attività giornaliere al giorno +7 e minore limitazione nell'apertura della bocca al giorno 0, +3 e +4 ($p < 0.05$ per tutti i confronti) (Figura 3b). Rispetto al gruppo lSFE, nei pazienti del gruppo tSFE è stata riportata un'incidenza minore di: gonfiore, (ai giorni +1, +2, +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10); ematoma, (ai giorni 0, 1, +2, +3, +4, +5, +6, +7, +8, +9, +10, +11);

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

secrezione/sanguinamento nasale, (ai giorni +5, +7 e +8) ($p < 0.05$ per tutti i confronti) (Figura 3c). Nessuna differenza significativa inter-gruppo è stata osservata relativamente alla distribuzione dei pazienti in base alla volontà di sottoporsi nuovamente allo stesso intervento chirurgico (Figura 3d).

Conclusioni

I risultati del presente studio suggeriscono che, in siti posteriori mascellari edentuli con altezza ossea residua di 3-6 mm, tSFE possa presentare dei vantaggi rispetto a ISFE perché caratterizzato da significativamente minore tempo di esecuzione alla poltrona, minore limitazione nell'esecuzione di attività quotidiane e apertura della bocca e minore incidenza di segni postoperatori come gonfiore, lividi e secrezioni/sanguinamento nasali.

Ringraziamenti

Lo studio è stato supportato da un fondo di ricerca istituito dalla Regione Emilia Romagna (Programma di Ricerca Regione-Università, Area 1 "Ricerca Innovativa", Bando Giovani Ricercatori "Alessandro Liberati" 2013; project PRUA1GR-2013-00000168) e da un fondo di ricerca istituito da Osteology Foundation, Lucerna, Svizzera (project #13-063).

I materiali rigenerativi sono stati cortesemente forniti da Geistlich Biomaterials Italia, Thiene, Italy; gli impianti dentali da Dental Trey, Fiumana-Predappio, Italia; i colluttori da Curaden Healthcare, Saronno, Italia.

Gli autori desiderano ringraziare il Dr. Andy Temmerman, Section Periodontology & Oral Microbiology, Department of Oral Health Sciences, University Hospital of Leuven Belgium, per aver gentilmente fornito informazioni aggiuntive in merito al suo studio (Temmerman et al. 2017).

Conflitti di interesse

Gli autori dichiarano di non avere conflitti di interesse relativamente al presente studio.

Bibliografia

- Al-Almaie, S., Kavarodi, A.M. & Al Faidhi, A. (2013) Maxillary sinus functions and complications with lateral window and osteotome sinus floor elevation procedures followed by dental implants placement: a retrospective study in 60 patients. *Journal of Contemporary Dental Practice* **14**, 405-413.
- Alqahtani, N.A., Khaleelahmed, S. & Desai, F. (2017) Evaluation of two flap designs on the mandibular second molar after third molar extractions. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology* **21**, 317-318.
- American Society of Anesthesiologists (2010) Continuum of Depth of Sedation: Definition of general anesthesia and levels of sedation/analgesia". Approved October 27, 2004, amended October 21, 2009. Retrieved 2010-11-29.
- Baldini, N., D'Elia, C., Bianco, A., Goracci, C., de Sanctis, M. & Ferrari, M. (2017) Lateral approach for sinus floor elevation: large versus small bone window - a split-mouth randomized clinical trial. *Clinical Oral Implants Research* **28**, 974-981.
- Baqain, Z.H., Al-Shafii, A., Hamdan, A.A. & Sawair, F.A. (2012) Flap design and mandibular third molar surgery: a split mouth randomized clinical study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **41**, 1020-1024.
- Cannizzaro, G., Felice, P., Leone, M., Viola, P. & Esposito, M. (2009) Early loading of implants in the atrophic posterior maxilla: lateral sinus lift with autogenous bone and Bio-Oss versus crestal mini sinus lift and 8-mm hydroxyapatite-coated implants. A randomised controlled clinical trial. *European Journal of Oral Implantology* **2**, 25-38.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

- Corbella, S., Taschieri, S. & Del Fabbro, M. (2015) Long-term outcomes for the treatment of atrophic posterior maxilla: a systematic review of literature. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* **17**, 120-132.
- Del Fabbro, M., Corbella, S., Weinstein, T., Ceresoli, V. & Taschieri, S. (2012) Implant survival rates after osteotome-mediated maxillary sinus augmentation: a systematic review. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* **14 Suppl 1**, e159-168.
- Del Fabbro, M., Wallace, S.S. & Testori, T. (2013) Long-term implant survival in the grafted maxillary sinus: a systematic review. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **33**, 773-783.
- Fan, T., Li, Y., Deng, W.W., Wu, T. & Zhang, W. (2017) Short Implants (5 to 8 mm) Versus Longer Implants (>8 mm) with Sinus Lifting in Atrophic Posterior Maxilla: A Meta-Analysis of RCTs. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* **19**, 207-215.
- Farina, R., Zaetta, A., Minenna, L. & Trombelli, L. (2016) Orbital and Periorbital Emphysema Following Maxillary Sinus Floor Elevation: A Case Report and Literature Review. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **74**, 2192.e1-2192.e7.
- Franceschetti, G., Farina, R., Stacchi, C., Di Lenarda, R., Di Raimondo, R. & Trombelli, L. (2014) Radiographic outcomes of transcresal sinus floor elevation performed with a minimally invasive technique in smoker and non-smoker patients. *Clinical Oral Implants Research* **25**, 493-499.
- Franceschetti, G., Farina, R., Minenna, L., Franceschetti, G. & Trombelli, L. (2015) Learning curve of a minimally invasive technique for transcresal sinus floor elevation: a split-group analysis in a prospective case series with multiple clinicians. *Implant Dentistry* **24**, 517-526.
- Franceschetti, G., Rizzi, A., Minenna, L., Pramstraller, M., Trombelli, L. & Farina, R. (2017) Patient-reported outcomes of implant placement performed concomitantly with transcresal sinus floor elevation or entirely in native bone. *Clinical Oral Implants Research* **28**, 156-162.
- Fugazzotto, P.A. & Vlassis, J. (2003) A simplified classification and repair system for sinus membrane perforations. *Journal of Periodontology* **74**, 1534-1541.
- Jurasic, M., Markovic, A., Radulovic, M., Brkovic, B.M. & Sándor, G.K. (2008) Maxillary sinus floor augmentation: comparing osteotome with lateral window immediate and delayed implant placements. An interim report. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics* **106**, 820-827.
- Kim, S.M., Park, J.W., Suh, J.Y., Sohn, D.S. & Lee, J.M. (2011) Bone-added osteotome technique versus lateral approach for sinus floor elevation: a comparative radiographic study. *Implant Dentistry* **20**, 465-470.
- Kirk, D.G., Liston, P.N., Tong, D.C. & Love, R.M. (2007) Influence of two different flap designs on incidence of pain, swelling, trismus, and alveolar osteitis in the week following third molar surgery. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics* **104**, e1-6.
- Krennmair, G., Krainhöfner, M., Schmid-Schwab, M. & Piehslinger, E. (2007) Maxillary sinus lift for single implant-supported restorations: a clinical study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* **22**, 351-358.
- Lundgren, S., Cricchio, G., Hallman, M., Jungner, M., Rasmusson, L. & Sennerby, L. (2017) Sinus floor elevation procedures to enable implant placement and integration: techniques, biological aspects and clinical outcomes. *Periodontology 2000* **73**, 103-120.
- Nandini, G.D. (2016) Eventuality of Dexamethasone Injected Intra-massetrically on Post-Operative Sequel Following the Surgical Extraction of Impacted Mandibular Third Molars: A Prospective Study. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery* **15**, 456-460.
- Pjetursson, B.E., Tan, W.C., Zwahlen, M. & Lang, N.P. (2008) A systematic review of the success of sinus floor elevation and survival of implants inserted in combination with sinus floor elevation. *Journal of Clinical Periodontology* **35(8 Suppl)**, 216-240.
- Pjetursson, B.E., Rast, C., Bragger, U., Zwahlen, M. & Lang, N.P. (2009) Maxillary sinus floor elevation using the osteome technique with or without grafting material. Part I – Implant survival and patient's perception. *Clinical Oral Implants Research* **20**, 667-676.
- Pjetursson, B.E. & Lang, N.P. (2014) Sinus floor elevation utilizing the transalveolar approach. *Periodontology 2000* **66**, 59-71.
- Rocha-Neto, A.M., Nogueira, E.F., Borba, P.M., Laureano-Filho, J.R. & Vasconcelos, B.C. (2017) Application of Dexamethasone in the Masseter Muscle During the Surgical Removal of Lower Third Molars. *Journal of Craniofacial Surgery* **8**, e43-e47.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

- Tan, W.C., Lang, N.P., Zwahlen, M. & Pjetursson, B.E. (2008) A systematic review of the success of sinus floor elevation and survival of implants inserted in combination with sinus floor elevation. Part II: transalveolar technique. *Journal of Clinical Periodontology* **35(8 Suppl)**, 241-254.
- Tan, W.C., Krishnaswamy, G., Ong, M.M. & Lang, N.P. (2014) Patient-reported outcome measures after routine periodontal and implant surgical procedures. *Journal of Clinical Periodontology* **41**, 618-624.
- Temmerman, A., Van Dessel, J., Cortellini, S., Jacobs, R., Teughels, W. & Quirynen, M. (2017) Volumetric changes of grafted volumes and the Schneiderian membrane after transcrestal and lateral sinus floor elevation procedures: A clinical, pilot study. *Journal of Clinical Periodontology* **44**, 660-671.
- Tetsch, J., Tetsch, P. & Lysek, D.A. (2010) Long-term results after lateral and osteotome technique sinus floor elevation: a retrospective analysis of 2190 implants over a time period of 15 years. *Clinical Oral Implants Research* **21**, 497-503.
- Trombelli, L., Minenna, P., Franceschetti, G., Farina, R. & Minenna, L. (2008) [Smart Lift: una nuova procedura minimamente invasiva per la elevazione del pavimento del seno mascellare]. *Dental Cadmos* **76**, 71-83. [article in italian]
- Trombelli, L., Minenna, P., Franceschetti, G., Minenna, L., Itró, A. & Farina, R. (2010a) Minimally invasive technique for transcrestal sinus floor elevation: a case report. *Quintessence International* **41**, 363-369.
- Trombelli, L., Minenna, P., Franceschetti, G., Minenna, L. & Farina, R. (2010b). Transcrestal sinus floor elevation with a minimally invasive technique. *Journal of Periodontology* **81**, 158-166.
- Trombelli, L., Franceschetti, G., Rizzi, A., Minenna, P., Minenna, L. & Farina, R. (2012) Minimally invasive transcrestal sinus floor elevation with graft biomaterials. A randomized clinical trial. *Clinical Oral Implants Research* **23**, 424-432.
- Trombelli, L., Franceschetti, G., Stacchi, C., Minenna, L., Riccardi, O.L., Di Raimondo, R., Rizzi, A. & Farina, R. (2014) Minimally-invasive transcrestal sinus floor elevation with a deproteinized bovine bone or β -tricalcium phosphate: a multicenter, randomized, controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology* **41**, 311-319.
- Trombelli, L., Franceschetti, G., Trisi, P. & Farina, R. (2015) Incremental, transcrestal sinus floor elevation with a minimally invasive technique in the rehabilitation of severe maxillary atrophy. Clinical and histological findings from a proof-of-concept case series. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **73**, 861-888.
- Yu, H. & Qiu, L. (2017) A prospective randomized controlled trial of two-window versus solo-window technique by lateral sinus floor elevation in atrophic posterior maxilla: Results from a 1-year observational phase. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* **19**, 783-792
- Zitzmann, N.U. & Schärer, P. (1998) Sinus elevation procedures in the resorbed posterior maxilla. Comparison of the crestal and lateral approaches. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontics* **85**, 8-17.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Tabella 1. Criteri di inclusione ed esclusione

Paziente-specifici

- ▶ età ≥ 21 anni;
- ▶ buono stato di salute fisica (ASA1 e ASA 2 secondo il Physical Status Classification System) (American Society of Anesthesiologists);
- ▶ condizioni locali e sistemiche compatibili con interventi di chirurgia implantare e interventi di rialzo di seno mascellare;
- ▶ indicazione clinica a ricevere una riabilitazione fissa a supporto implantare con associata procedura di rialzo di seno mascellare come parte integrante di una riabilitazione orale
- ▶ paziente capace di intendere e di volere e di partecipare al protocollo di studio.

Criteri di inclusione

Sito-specifici

Per essere considerato sperimentale, e quindi inserito nelle analisi dello studio, un sito doveva soddisfare i seguenti criteri:

- ▶ ≥ 6 mesi trascorsi dalla data di estrazione;
- ▶ altezza ossea residua (misurata su esame tomografico computerizzato) ≥ 3 mm e ≤ 6 mm;
- ▶ ampiezza ossea residua compatibile con l'inserimento di impianto/i di diametro ≥ 3.5 mm.

Criteri di esclusione

Paziente-specifici

- ▶ stato di forte fumatore (≥ 20 sigarette/die al momento del trattamento o per i 6 mesi antecedenti);
- ▶ parodontite non trattata prima del trattamento sperimentale;
- ▶ storia di radioterapia nell'area testa-collo;
- ▶ storia di chemioterapia;
- ▶ patologie o condizioni sistemiche con documentato effetto sul metabolismo osseo e/o sui meccanismi di guarigione ossea;
- ▶ assunzione pregressa (entro i 6 mesi precedenti la partecipazione allo studio) o attuale di farmaci con documentato effetto sul metabolismo osseo e/o su meccanismi di guarigione ossea;
- ▶ handicap fisici o mentali che possano interferire con l'adesione alle procedure dello studio o con il mantenimento di un'adeguata igiene orale domiciliare;
- ▶ allergia documentata a materiali dentali utilizzati nel protocollo sperimentale;
- ▶ stato di gravidanza o di allattamento;
- ▶ storia di abuso di droghe o di alcol.

I partecipanti allo studio dovevano essere immediatamente esclusi dallo studio in caso di:

- ▶ richiesta di astenersi dalla partecipazione allo studio;
- ▶ insorgenza di patologie acute dentali, peri-implantari od orali o di qualsiasi altra condizione che richieda ulteriore trattamento;
- ▶ insorgenza di condizioni in conflitto con i criteri di inclusione elencati precedentemente;
- ▶ incapacità ad eseguire i compiti/istruzioni richiesti dal protocollo di studio.

Sito-specifici

- ▶ presenza di lesioni endodontiche nei siti adiacenti al sito implantare sperimentale;
- ▶ pregressa procedura di ricostruzione/preservazione ossea nelle aree designate a ricevere inserimento implantare;
- ▶ diagnosi di sinusite mascellare nel quadrante sperimentale;
- ▶ necessità di procedure di ricostruzione ossea, orizzontale o verticale, oltre alla procedura di rialzo di seno mascellare.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Tabella 2. Caratteristiche dei pazienti e degli impianti nei gruppi tSFE e ISFE

	pazienti	impianti	n° impianti per paziente inseriti contestualmente a SFE	età (anni)	genere	Stato fumatore	RBH (mm)	Diametro Implantare (mm)	Lunghezza implantare (mm)
	n	n	1 impianto / 2 impianti	mediana (IR)	n° maschi / n° femmine	n° fumatori / ex-fumatori / non fumatori	mediana (IR)	mediana (IR)	mediana (IR)
gruppo tSFE	27	31	23/4	51.0 (47.0 - 58.0)	16 / 11	4 / 3 / 20	4.5 (4.0 - 5.3)	4.0 (4.0 - 4.0)	9.5 (9.5 - 11.0)
gruppo ISFE	28	33	23/5	53.0 (48.5 - 59.0)	11 / 17	3 / 2 / 23	4.1 (4.0 - 4.4)	4.0 (4.0 - 4.0)	9.5 (9.5 - 11.0)
valore p			1	0.542	0.139	0.711	0.151	0.493	0.188

Legenda della tabella

IR: intervallo interquartile; RBH: altezza ossea residua; tSFE: procedura di rialzo del pavimento del seno mascellare con accesso transcrestale (Smart Lift technique); ISFE: procedura di rialzo del pavimento del seno mascellare con accesso laterale.

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Tabella 3. Aspetti chirurgici delle procedure sperimentali

	Sestante posteriore mascellare	Sito/i sperimentale/i	Dosaggio di anestetico (n° fiale)	Incisioni di rilascio (n°)	Quantità di biomateriale inserita nel seno (mg)*	Tecnica utilizzata per antrostomia	Modalità di esecuzione dell'antrostomia	Dimensioni antrosotomia (mm)		Durata intera procedura chirurgica # (min)	Durata procedura sperimentale § (min)
								Larghezza	Altezza		
	n° destro / n° sinistro	1° premolare / 2° premolare / 1° molare / 2° molare	mediana (IR)	0 / 1 / 2	mediana (IR)	Frese rotanti / strumenti piezoelettrici / combinazione	abrasione / rimozione / introflessione	mediana (IR)	mediana (IR)	mediana (IR)	mediana (IR)
Gruppo tSFE (27 pazienti)	12/15	1/6/21/3	2.0 (2.0 – 2.8)	8/3/16	420.0 (350.0 – 500.0)	-	-	-	-	54.0 (45.5 – 60.5)	32.0 (24.0 – 38.0)
Gruppo ISFE (28 pazienti)	11/17	0/5/25/3	3.0 (2.0 - 4.0)	0/10/18	1975.0 (1450.0 – 2500.0)	7/18/3	20/0/8	10.0 (9.0 - 12.5)	7.0 (6.0 - 8.0)	86.0 (65.8 – 98.0)	54.5 (39.8 – 65.0)
Valore p	0.699	0.875	0.002	0.002	< 0.001					< 0.001	< 0.001

Legenda della tabella

IR: intervallo interquartile; tSFE: procedura di rialzo del pavimento del seno mascellare con accesso transcrestale (tecnica Smart Lift); ISFE: procedura di rialzo del pavimento del seno mascellare con accesso laterale.

* nel gruppo ISFE, DBBM è stato utilizzato sia in granulometria piccola (0.25 - 1 mm) che grande (1 - 2 mm), a discrezione dell'operatore;

calcolato dal momento della prima incisione al termine della sutura;

§ calcolato dalla perforazione della corticale con la fresa Locator Drill al completamento dell'inserimento implantare (per il gruppo tSFE); calcolato dall'osteotomia sulla parete laterale del seno mascellare al posizionamento della membrana riassorbibile a copertura dell'antrostomia, includendo, pertanto, sia la procedura di innesto che il posizionamento implantare (per il gruppo ISFE).

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Tabella 4. Dose di analgesici (comprese di ibuprofene 600mg) assunti dal paziente pro re nata durante le prime due settimane post-operatorie nei gruppi tSFE e ISFE. La dose è espressa come numero mediano di compresse di analgesici (intervallo interquartile).

Giorno	0 <small>(chirurgia)</small>	+1	+2	+3	+4	+5	+6	+7	+8	+9	+10	+11	+12	+13	+14
tSFE	1.0 <small>(1.0 – 2.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 1.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 1.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>
ISFE	1.0 <small>(0.0 – 1.3)</small>	1.0 <small>(0.0 – 2.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 1.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 1.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 1.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>	0.0 <small>(0.0 – 0.0)</small>
Valore p	0.047	0.073	0.498	0.070	0.205	0.389	0.498	0.646	0.835	0.658	0.658	0.658	0.822	0.658	0.822

Legenda della tabella

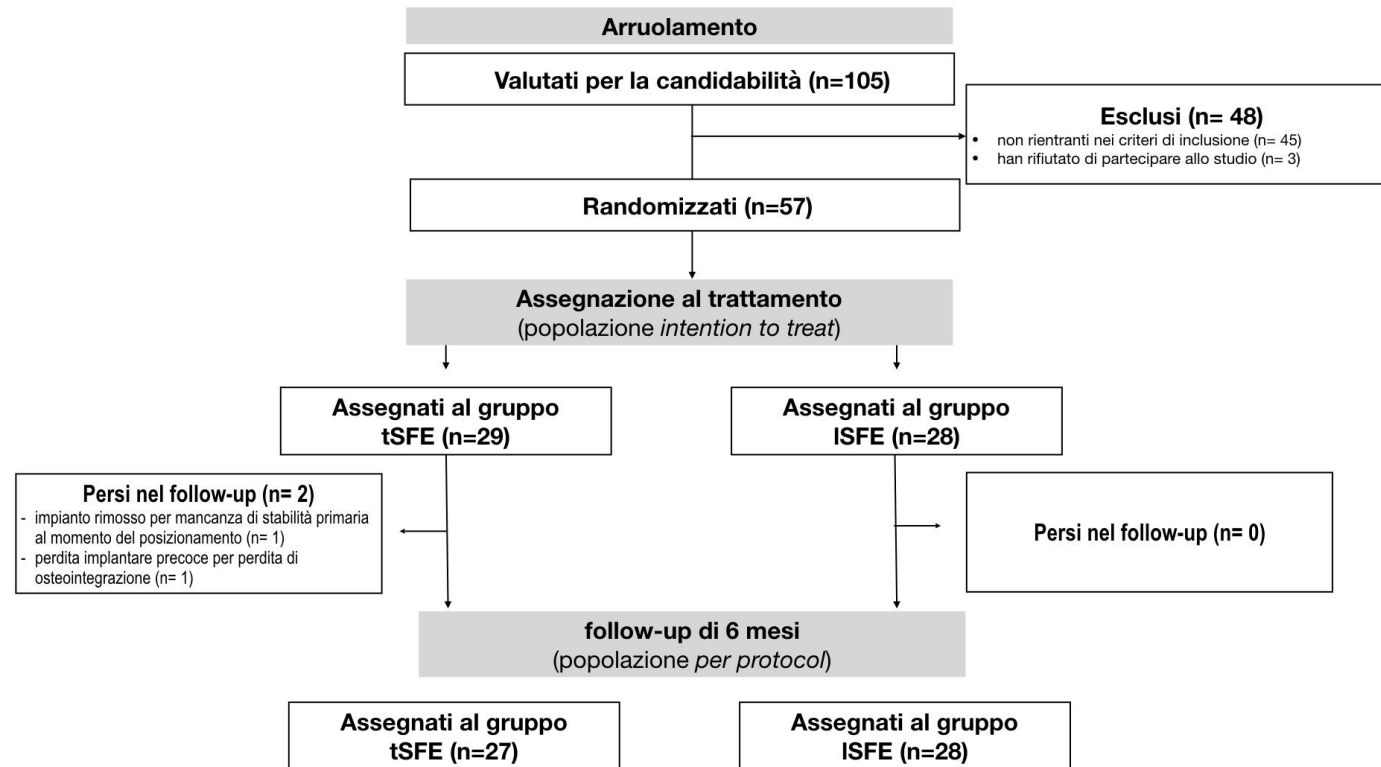
tSFE: procedura di rialzo del pavimento del seno mascellare con accesso transcrestale (tecnica Smart Lift); ISFE: procedura di rialzo del pavimento del seno mascellare con accesso laterale.

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Figura 1. Diagramma di flusso di inclusione dei pazienti e di follow-up.



SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Figura 2. Severità di dolore mediana (VAS_{pain}) riportata dai pazienti durante i primi 14 giorni post-operatori su scala analogica visiva di lunghezza 100 mm (VAS) (con intervallo “0 - no dolore” - “100 - massimo dolore immaginabile”).

Legenda

gruppo tSFE: procedura di rialzo del pavimento del seno mascellare con accesso transcrestale (tecnica *Smart Lift*); ISFE: procedura di rialzo del pavimento del seno mascellare con accesso laterale.

Effetto del tempo (test di Friedman, confronti post-hoc con test di Wilcoxon con correzione di Bonferroni): il tempo ha avuto effetto significativo su VAS_{pain} in ogni gruppo di trattamento ($p < 0.001$).

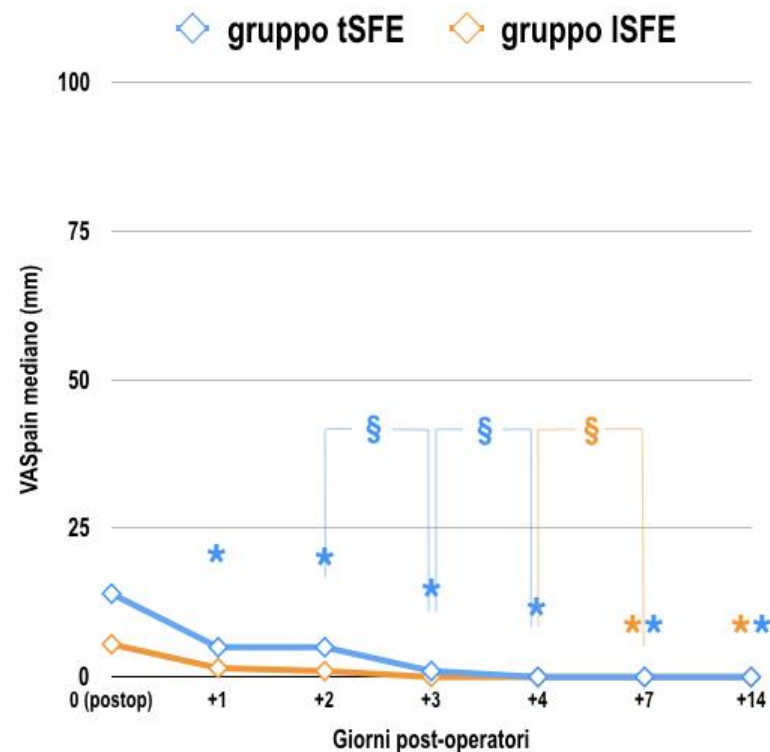
* (arancione): differenza significativa di VAS_{pain} rispetto al giorno 0 all'interno del gruppo ISFE: day +7 ($p = 0.0001$); day +14 ($p = 0.0004$);

* (blue): differenza significativa di VAS_{pain} rispetto al giorno 0 all'interno del gruppo tSFE: day +1 ($p = 0.0008$); day +2 ($p = 0.002$); day +3 ($p < 0.001$); day +4 ($p < 0.001$); day +7 ($p < 0.001$); day +14 ($p < 0.001$).

§ (arancione): differenza significativa di VAS_{pain} tra il giorno +4 e il giorno +7 ($p = 0.0029$) all'interno del gruppo ISFE;

§ (blue): differenza significativa di VAS_{pain} tra il giorno +2 e il giorno +3 ($p = 0.0014$) e tra il giorno +3 e il giorno +4 ($p = 0.0018$) all'interno del gruppo tSFE.

Effetto del trattamento (test U di Mann-Whitney): nessuna differenza significativa di VAS_{pain} è stata trovata tra i gruppi ad ogni intervallo di osservazione.

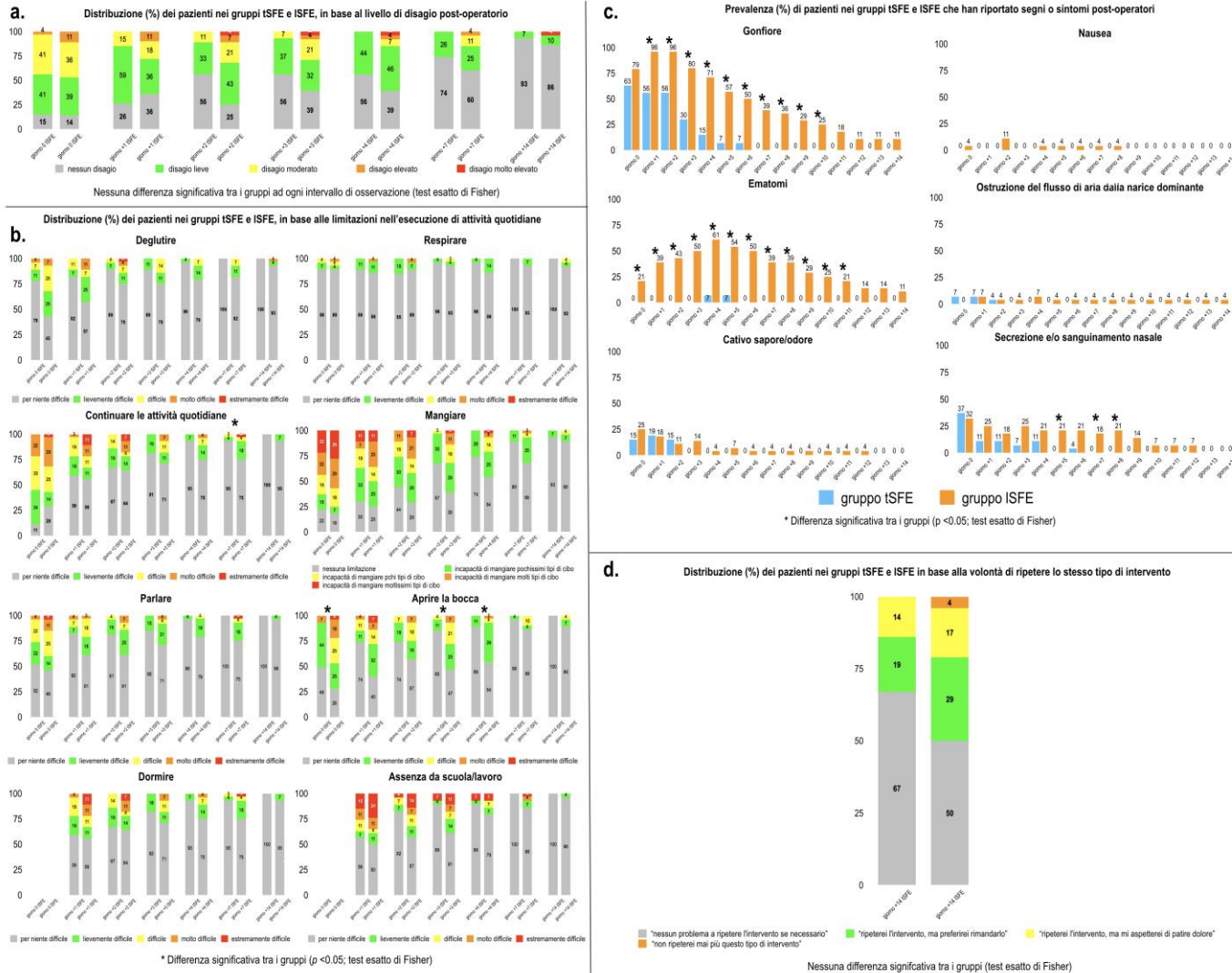


SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

Figura 3. Distribuzione dei pazienti (%) nei gruppi tSFE e ISFE in base a quanto riportato dai pazienti in quanto a disagio post-operatorio (a), limitazioni nell'eseguire attività quotidiane (b), segni clinici o sintomi post-operatori (c) e volontà di ripetere lo stesso tipo di intervento chirurgico, se necessario (d).



SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

MORBIDITÀ DEL PAZIENTE DOPO PRELIEVO EPITELIO CONNETTIVALE DAL PALATO CON O SENZA COPERTURA CON MEMBRANE DI PRF: UNO STUDIO COMPARATIVO RANDOMIZZATO

Gatti Fulvio, Scaramuzza Eliam, Matteo Chiapasco

Unità di Chirurgia Orale, Clinica Odontostomatologica, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano, Direttore Prof. M Chiapasco

Riassunto

Obiettivo: valutare l'insorgenza di complicanze e la morbidità post-operatoria di pazienti sottoposti a prelievo epitelio-connettivale dal palato con o senza membrane autogene di PRF (Platelet Rich Fibrin) per la copertura della ferita in sede di prelievo.

Materiali e Metodi: Pazienti che necessitavano di un prelievo epitelio-connettivale dal palato per il trattamento di recessioni su denti naturali di I o II classe di Miller sono stati considerati idonei per lo studio. Nel gruppo test è stato raccolto sangue venoso per realizzare membrane di PRF da porre sulla ferita palatale. Il gruppo controllo prevedeva la copertura con mezzi emostatici a base di cellulosa ossidata e rigenerata.

La morbidità post-operatoria è stata riportata dal paziente utilizzando una scala VAS (Visual Analogic Scale). Guarigione clinica e complicanze sono state valutate da un operatore cieco.

Risultati: sono stati coinvolti nello studio 42 pazienti, 21 test (età media 35,4 anni) e 21 controlli (età media di 38,4 anni). La differenza tra i due gruppi risulta statisticamente significativa a favore del gruppo test per stress post-operatorio (mediana 2,10 cm, gruppo test versus 5,00 cm, gruppo controllo) e il dolore nel sito di prelievo palatino (mediana 2,00 cm, gruppo test versus 6,20 cm, gruppo controllo).

Conclusione: le membrane di PRF possono ridurre la morbidità post-operatoria del paziente dopo prelievo epitelio-connettivale dal palato senza condizionare i tempi d'intervento.

Introduzione

Le recessioni gengivali possono essere definite come la migrazione del margine gengivale apicalmente alla giunzione amelo-cementizia, con la conseguente esposizione della superficie radicolare.

La letteratura scientifica ha evidenziato che le recessioni gengivali possono essere trattate con diverse tecniche chirurgiche¹. La scelta della tecnica dipende da alcuni fattori locali come le dimensioni della recessione, la presenza o meno di gengiva cheratinizzata adiacente alla recessione, la presenza di frenuli, la profondità del vestibolo e l'altezza dei tessuti molli interdentali.

Tuttavia, i dati presenti in letteratura sembrano indicare che l'aggiunta di un innesto connettivale (Connective Tissue Graft, CTG) ad un lembo riposizionato coronalmente incrementerebbe la probabilità di successo a lungo termine, soprattutto nei pazienti con biotipo sottile².

Diverse tecniche di prelievo connettivale sono state proposte per ottenere una guarigione per prima intenzione del sito di prelievo palatale, tra cui la tecnica *Trap-door*³ e la tecnica a singola incisione^{4,5}. Le caratteristiche comuni a queste tecniche sono l'elevazione di un lembo a spessore parziale, il prelievo del tessuto connettivale e la completa chiusura della ferita palatale tramite la sutura del lembo d'accesso.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

Un'alternativa proposta in letteratura riguarda il prelievo epitelio-connettivale, disepitelizzato prima del suo utilizzo (De-epithelialized gingival grafts, DGG)^{6,7}, con successiva guarigione per seconda intenzione della ferita palatina.

Le tecniche *Trap-door* ed a singola incisione, richiedendo l'esecuzione di un lembo primario di accesso, consentono il prelievo di un connettivo più profondo che può comprendere tessuto adiposo e ghiandolare col rischio di ridurre l'efficacia dell'intervento di ricopertura radicolare. Inoltre, lo spessore della fibromucosa palatale deve essere adeguato per evitare la necrosi o la deiscenza del lembo durante la guarigione a causa di un lembo primario di accesso troppo sottile^{6,8,9}.

Invece, per il prelievo epitelio-connettivale è necessario un minore spessore della fibromucosa palatina per ottenere un innesto connettivale denso e stabile, indicato per una ricopertura radicolare⁶.

Solo pochi studi^{4,10,11} hanno indagato la morbidity post-operatoria mettendo a confronto le guarigioni per prima o seconda intenzione. Questi studi riportano risultati peggiori con tecnica DGG piuttosto che CTG ad esclusione dei casi in cui si siano verificati eventi come la necrosi o la deiscenza dei lembi di accesso. Tuttavia, il limite di questi studi è dovuto all'assenza di dati sulle dimensioni dei prelievi eseguiti dal palato.

Zucchelli e co-autori nel 2010 hanno dimostrato che la morbidity post-operatoria delle tecniche CTG e DGG non presenta differenze statisticamente significative⁷. Gli stessi autori hanno evidenziato che i fattori che influenzano il consumo postoperatorio di antidolorifici sono l'altezza e la profondità del prelievo e non il tipo di guarigione (primaria o secondaria) della ferita sul palato⁷. Inoltre, le tecniche CTG prevedono tempi di intervento più lunghi⁷, fattore che è stato correlato ad un maggior dolore post-chirurgico^{2,10}.

A partire dal 1988, allo scopo di ridurre la morbidity post-operatoria e favorire i meccanismi di guarigione delle ferite, in molti campi della medicina è stato proposto l'utilizzo di concentrati piastrinici.

In odontoiatria solo pochi autori hanno indagato l'utilizzo di concentrati piastrinici nei siti donatori palatali a seguito di prelievo connettivale, allo scopo di ridurre le complicanze e migliorare la morbidity postoperatoria^{12,13}, e nessuno utilizzando il PRF (Leucocyte and Platelet Rich Fibrin)^{14,15}.

Obiettivo dello studio è quello di valutare l'insorgenza di complicanze e la morbidity post-operatoria del paziente sottoposto a prelievo epitelio-connettivale dal palato con o senza membrana autogena di PRF per la copertura della ferita nella sede di prelievo.

Materiali e Metodi

Lo studio è stato disegnato come uno studio randomizzato controllato a gruppi paralleli e in doppio cieco; gli operatori in cieco erano rappresentati dall'esaminatore adibito alla valutazione post-operatoria dei segni clinici di guarigione e dallo statistico designato per l'analisi dei dati.

Tutti i pazienti che necessitavano di un prelievo epitelio-connettivale dal palato per il trattamento di recessioni su denti naturali di I o II classe di Miller sono stati considerati idonei per lo studio e consecutivamente arruolati presso il reparto di Chirurgia Orale, della Clinica Odontoiatrica G.Vogel, Ospedale San Paolo, Milano. La tecnica di ricopertura della ferita palatina con membrane di PRF (gruppo test) è stata confrontata con quella di impacco tradizionale con mezzi emostatici a base di cellulosa ossidata (gruppo controllo) per valutare l'eventuali differenze nella guarigione e nella morbidity post-operatoria nei due gruppi.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

Lo studio è stato approvato e autorizzati dal Comitato Etico Milano Area 1 con delibera num. 1822.

Tutti i pazienti hanno accettato di partecipare allo studio e per essere definitivamente coinvolti dovevano soddisfare i seguenti criteri di inclusione: età compresa tra i 18 e i 60 anni, igiene orale compatibile con il mantenimento di un adeguato livello di salute orale (FMPS e FMBS < 20%), presenza di 2 recessioni adiacenti su denti naturali, con profondità ≥ 2 mm e di I o II classe di Miller. Sono stati esclusi dallo studio i pazienti con compliance inadeguata (patologie psichiatriche), utilizzatori di sostanze stupefacenti, con abitudine al fumo (>10 sigarette al giorno), affetti da patologie sistemiche non compensate (diabete, ipertensione, insufficienza renale, insufficienza epatica, insufficienza respiratoria, altre patologie disendocrine, di-smetaboliche), che assumono farmaci che interferiscono con la salute o la guarigione parodontale, affetti da patologie della coagulazione o alterazioni della coagulazione (congenite, acquisite o da farmaci) e affetti da patologie autoimmuni, immunodepressi o in terapia con immunosoppressori.

Sono stati inoltre esclusi i pazienti con recessioni appartenenti alla terza classe di Miller, recessioni di profondità ≤ 2 mm, recessioni su molari, presenza di parodontite attiva e igiene orale inadeguata e incompatibile con un adeguato livello di salute orale (FMPS/ FMBS > 20%).

DIMENSIONE DEL CAMPIONE E RANDOMIZZAZIONE

Per il calcolo della dimensione del campione tale da determinare una potenza statistica pari all'80%, è stato considerato un livello di significatività α (alfa) di 0,05 e un errore probabile β (beta) di 0,8, derivato questo dallo studio comparativo randomizzato di Wessel & Tatakis¹¹ che aveva la morbilità del paziente come outcome primario. Allo scopo di soddisfare i parametri impostati sono necessari un minimo 18 pazienti per gruppo studio. Si è deciso di arruolare 21 pazienti considerando eventuali drop-out.

La randomizzazione dei pazienti è stata effettuata in modo digitale tramite computer e il risultato è stato inserito in una busta chiusa. L'operatore che ha eseguito il prelievo ematico (ES) è differente da quello che ha eseguito l'intervento chirurgico (FG).

Prima di iniziare l'intervento, il responsabile del prelievo ha aperto la busta determinando il gruppo di appartenenza del paziente. Se il paziente apparteneva al gruppo test, veniva sottoposto al prelievo di sangue necessario per la realizzazione del concentrato piastrinico. L'equipe chirurgica invece è venuta a conoscenza del gruppo di appartenenza del paziente solo al momento della sutura, dopo il prelievo epitelio-connettivale.

Protocollo di preparazione del concentrato piastrinico (PRF)

Il sangue venoso del paziente è stato raccolto per mezzo di un ago butterfly in due provette (Venosafe ref: VF- 109SP, Venosafe™, Terumo, Roma, Italia) da 10 ml senza l'utilizzo di anti-coagulanti o altri additivi chimici.

A seguito del prelievo le provette destinate alla produzione di PRF sono state immediatamente centrifugate a bassa velocità (3000 rpm) per 10 minuti (Hettich Zentrifugen EBA 20 - HETTICH ITALIA SRL - Via Prestinari, 4 - 20158 Milano, Italia).

Al termine della centrifugazione nella provetta si osservano 3 differenti strati: situato sul fondo si osserva lo strato di globuli rossi, in mezzo alla provetta il coagulo fibrinico di PRF e in superficie lo strato di plasma acellulare. Mediante una pinzetta sterile è stato rimosso il coagulo di PRF dalla provetta e con forbici sterili si taglia la porzione di globuli rossi che rimane adesa alla base del coagulo.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

Il PRF ottenuto è stato avvolto in una garza sterile e posizionato tra due piastre di vetro sterilizzate; la compressione eseguita dalle piastre consente il rilascio del siero e di ottenere una membrana di PRF.

La membrana di PRF così realizzata è stata direttamente impiegata nel sito chirurgico senza ulteriori modifiche.

PROTOCOLLO CHIRURGICO

Previa Anestesia locale per infiltrazione con mepivacaina 2% + adrenalina 1:100.000 è stato eseguito il lembo che prevedeva un'incisione orizzontale estesa per 3 mm in senso distomesiale a partire dal versante mesiale della recessione più mesiale a una distanza dal vertice della papilla anatomica pari alla profondità della recessione + 1mm. Un' Incisione orizzontale estesa per 3 mm in senso mesio-distale a partire dal versante distale della recessione più distale a una distanza dal vertice della papilla anatomica pari alla profondità della recessione + 1mm. La recessione più profonda delle due determinava la posizione dell'incisione orizzontale compresa tra i due denti/impianti affetti da recessione, la dimensione mesio-distale di quest'incisione orizzontale dipendeva dalla distanza dei denti adiacenti ma era sempre ≥ 3 mm. Dopo l'esecuzione di 2 incisioni verticali bisellate che si estendevano nella mucosa alveolare è stato elevato un lembo a spessore misto per consentire la dislocazione coronale del lembo. La disepitelizzazione delle papille anatomiche è avvenuta tramite forbici da microchirurgia; le superfici radicolari sono state trattate con punte ultrasoniche ed esposte a EDTA 24% per 2 minuti.

I prelievi palatali sono stati eseguiti in sede controlaterale rispetto a quella di innesto, in modo che il paziente potesse distinguere più facilmente la morbidità legata all'innesto rispetto a quella legata al prelievo.

Il prelievo palatale è stato eseguito seguendo una dima monouso rettangolare dalle dimensioni di 20 x 6 mm che permettesse il sondaggio in 5 punti ripetibili.

La dimensione standard della dima è stata ottenuta stimando una quantità media necessaria per il trattamento dei difetti muco-gengivali inclusi nello studio.

E' stato eseguito un sondaggio preliminare con un ago da anestesia con stop in silicone che permettesse di ottenere lo spessore del palato nei 5 punti sondati.

La misurazione è stata eseguita nuovamente negli stessi punti sull'innesto prelevato in modo che si potesse registrare lo spessore dell'innesto connettivale e conoscere lo spessore del tessuto residuo sul palato ottenuto per differenza.

Previa Anestesia locale per infiltrazione con mepivacaina 2% + adrenalina 1:100.000, con una lama 15c è stato prelevato un innesto epitelio-connettivale seguendo la dima posizionata in regione premolare-molare mantenendo l'incisione più coronale 1-1,5 mm apicale al margine dei tessuti molli del dente adiacente. Lo spessore dell'innesto è stato mantenuto il più uniforme possibile durante la procedura di prelievo.

La disepitelizzazione dell'innesto è avvenuta con una lama 15c; la differente consistenza e rifrazione della luce tra tessuto connettivale e epiteliale ha consentito la disepitelizzazione dell'innesto.

Le superfici dentali esposte sono state ricoperte dall'innesto connettivale ancorato al tessuto residuo interdentale con un filo riassorbibile Vycril 6/0.

L'innesto posizionato è stato ricoperto mediante l'avanzamento coronale del lembo e la sutura con punti singoli a livello delle incisioni di rilascio mentre a livello delle papille è stata effettuata una sutura sospesa ancorata al cingolo palatale dei denti interessati dalla recessione. Al momento della sutura il lembo doveva ricoprire completamente l'innesto ed essere circa 1mm coronale alla CEJ dei denti coinvolti nel disegno del lembo.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

A questo punto l'operatore veniva a conoscenza del gruppo di appartenenza del paziente. Per il gruppo “controllo” sono stati applicati punti di sutura a materassino sul palato con seta 5/0 per stabilizzare i mezzi emostatici a base di cellulosa ossidata e rigenerata (TABOTAMP; Ethicon Sarl. Rue de Puits Godet, 20. 2000 Neuchatel. Switzerland).

Nel gruppo “test” sono state suturate e stabilizzate con la stessa tecnica le membrane di PRF precedentemente ottenute.

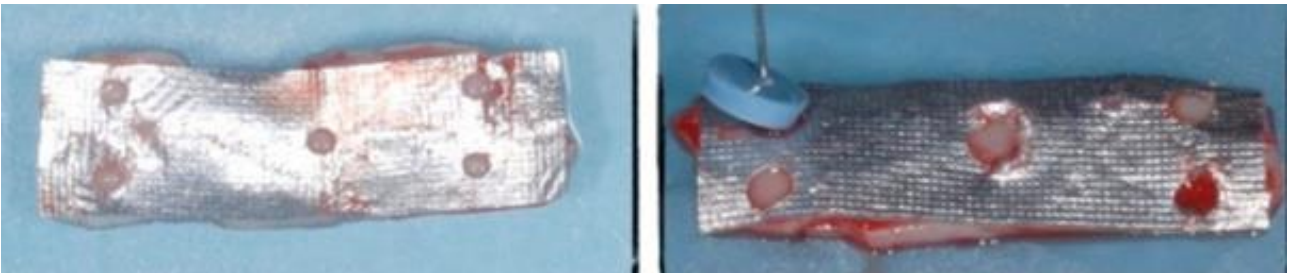
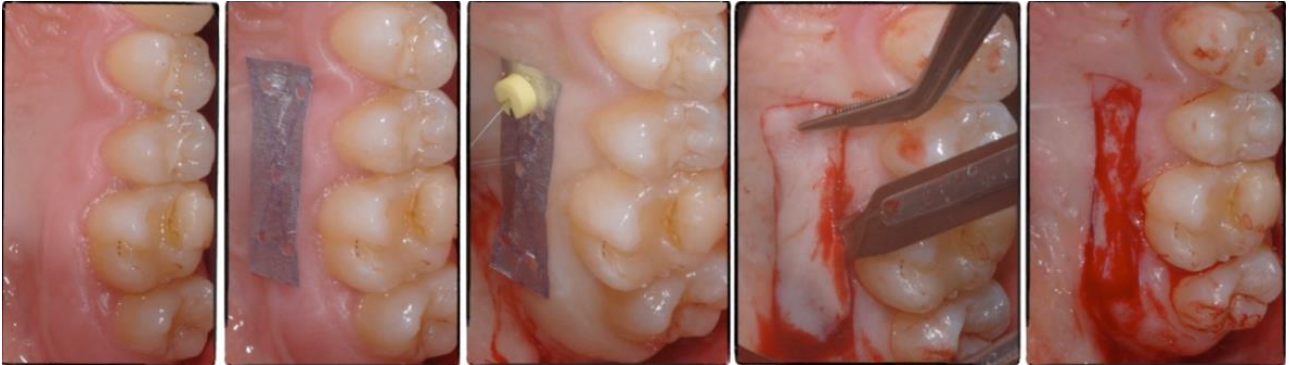


Figura 1 : è stata realizzata una dima monouso 20 x 6 mm per la dimensione del prelievo; attraverso il sondaggio in 5 punti ripetibili con ago da anestesia con stop in silicone si è potuto ottenere lo spessore medio del palato

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP



Figura 2: lo spessore dell'innesto prelevato è stato misurato negli stessi punti attraverso i fori della dima; per differenza tra le misure precedenti è stato possibile stimare lo spessore del tessuto residuo sul palato

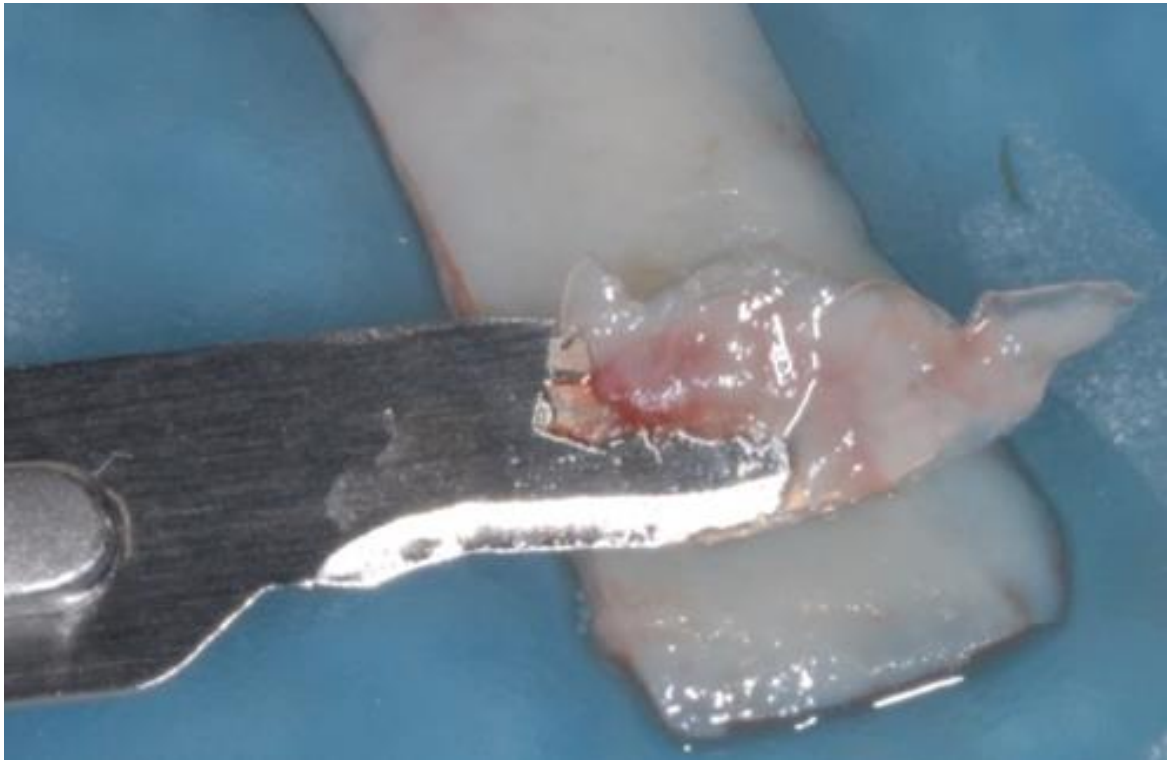


Figura 3 : la differente consistenza e rifrazione della luce tra tessuto connettivale ed epiteliale ha consentito la disepitelizzazione dell'innesto per mezzo di una lama 15c.

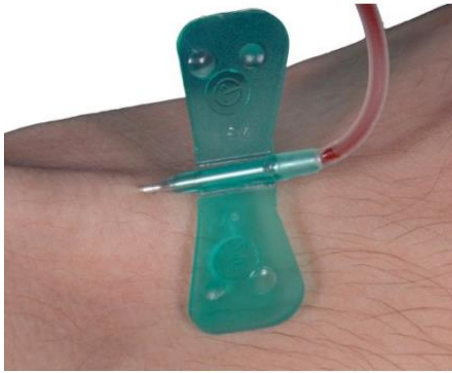


Figura 4 : il sangue venoso del paziente è stato raccolto con ago butterfly. Con una pinzetta si è rimosso il coagulo di PRF dalla provetta e con forbici è stata tagliata la porzione di globuli rossi rimasta adesa alla base del coagulo.

Figura 5 : la compressione del PRF tra 2 piastre ha consentito il rilascio del siero e di ottenere una membrana di PRF. I punti di sutura sono stati posizionati sul palato con seta 5/0 per stabilizzare le membrane ottenute.



SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

Protocollo post chirurgico

Tutti i pazienti sono stati trattati con 2g amoxicillina + acido clavulanico 1 ora prima della chirurgia e 1g 6 ore dopo; la terapia è prescritta per 5 giorni successivi con assunzione di 1 gr ogni 12 ore.

In caso di allergie alle penicilline, i pazienti sono stati trattati con Claritromicina 500 mg un'ora prima della chirurgia, 250 mg 6 ore dopo e 250 mg ogni 12 ore per i successivi 5 giorni. I pazienti hanno assunto Ibuprofene 600 mg dopo l'intervento chirurgico come terapia antiinfiammatoria e analgesica; il resto delle eventuali assunzione è avvenuta al bisogno e registrata nella scheda di raccolta dati. Nessun paziente riferiva di essere allergico al farmaco.

La terapia di igiene orale domiciliare prevedeva l'utilizzo di Clorexidina 0,12 % per 1 minuto 3 volte al giorno e la sospensione delle manovre di spazzolamento nelle zone operate fino alla rimozione delle suture dopo 14 giorni. Successivamente al paziente si permetteva di spazzolare le sedi trattate chirurgicamente con spazzolino ultramorbido e filo fit-floss per le successive 4 settimane.

Per i successivi 2 giorni dopo l'intervento veniva consigliata una dieta semiliquida per poi continuare con una dieta composta di cibi morbidi e non taglienti per altri 14 giorni.

OUTCOME VALUTATI:

Principali

- La morbidity post-operatoria è stata valutata mediante scala VAS (Scala visuo-analogica) dal paziente. La scala VAS è caratterizzata da un segmento orizzontale di 10 cm alle cui estremità si collocano gli estremi del dolore, il paziente segna con un punto il livello di intensità percepita¹⁶.

Con questa scala sono stati valutati i seguenti parametri:

- a) Il dolore post-operatorio: si valuta quanto il paziente riesce a discriminare il dolore percepito nel sito di innesto da quello di prelievo.
- b) Discomfort: è definito come il livello di indolenzimento provato dal paziente durante la prima settimana post-operatoria dovuto alla ferita palatale. Si considera quanto risulti condizionato il sonno, l'umore e la capacità lavorativa.
- c) Inabilità alla masticazione: è in relazione ai cambiamenti nelle abitudini alimentari del paziente causate dalla ferita palatale.
- d) Stress: si basa sul livello di apprensione e paura provati dal paziente in relazione alla compromissione dell'integrità del palato.

- Sanguinamento post-operatorio: il paziente ha inoltre registrato quante volte e per quanto tempo si è verificato il sanguinamento dal sito di prelievo palatale.

- Consumo di antidolorifici (Ibuprofene 600 mg compresse). Al paziente è stata consegnata una scatola integra ed è stato chiesto di portare la scatola con se al controllo, contando le pillole assunte.

- Valutazione clinica e registrazione degli eventi avversi durante la guarigione della ferita di prelievo palatale. La guarigione clinica del sito di prelievo è stata valutata da un operatore (AT) non a conoscenza dei gruppi di appartenenza dei pazienti visitati a 3, 14, 30 e 90 giorni dall'intervento. La rimozione sutura è avvenuta al 14° giorno. Sono state scattate fotografie cliniche dei siti di prelievo e sono state registrate le eventuali complicanze quali: necrosi del tessuto marginale, ematoma, infezione e alterazioni della sensibilità a livello palatale.

Secondari

- Valutazione dei tempi medi delle procedure di prelievo di tessuto connettivale dal palato dall'iniezione dell'anestetico locale all'ultimo punto di sutura.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

- Valutazione dello spessore dell'innesto epitelio-connettivale prelevato e stima del tessuto connettivale residuo sul palato. E' stato eseguito un sondaggio preliminare con un ago da anestesia con stop in silicone che permettesse di ottenere lo spessore del palato nei 5 punti sondati tramite i fori della dima utilizzata. La misurazione è stata eseguita nuovamente negli stessi punti sull'innesto prelevato in modo che si potesse registrare lo spessore dell'innesto connettivale e conoscere lo spessore del tessuto residuo sul palato ottenuto per differenza.

Analisi statistica

L'analisi dei dati è stata svolta in accordo con un piano d'analisi prestabilito. Uno statistico con esperienza in campo odontoiatrico ha analizzato i dati usando SPSS per Windows release 18.0 (SPSS, Chicago; IL, USA) senza conoscere i gruppi di appartenenza dei pazienti coinvolti. Il paziente era l'unità statistica dell'analisi svolta. La differenza delle medie per il consumo di antidolorifici è stata comparata con un t test per campioni indipendenti.

E' stato usato il test di Mann-Whitney U per confrontare le mediane dei due gruppi per quanto riguarda il dolore post-operatorio del sito di prelievo e del sito di innesto, il discomfort post-operatorio, l'incapacità alla masticazione, lo stress e il sanguinamento post-operatorio. È stata inoltre calcolata la mediana ed i valori degli interquartili (IRQ) allo scopo di fornire una descrizione migliore dei dati presentati.

Tutte le comparazioni statistiche sono state condotte con un livello di significatività di 0,05.

Risultati

Sono stati coinvolti nello studio 42 pazienti, 21 nel gruppo test (9 femmine, 12 maschi di età media di 35,4 anni \pm 6) e 21 nel gruppo controllo (15 femmine e 6 maschi di età media di 38,4 \pm 5).

Tutti i pazienti di entrambi i gruppi hanno completato lo studio presentandosi regolarmente ai controlli clinici e compilando le schede di raccolta dati come da programma prestabilito.

Il dolore nella sede di prelievo è stato: mediana 2,00 cm (I IRQ 1,20 – III IRQ 2,90) nel gruppo test; mediana 6,20 cm (I IRQ 3,30 – III IRQ 8,00) nel gruppo controllo. La differenza tra le mediane dei 2 gruppi è risultata statisticamente significativa (P = 0,027).

Il dolore nel sito di innesto era: mediana 2,00 cm (I IRQ 1,10 – III IRQ 5,20) nel gruppo test; mediana 1,90 cm (I IRQ 1,00 – III IRQ 4,90) nel gruppo controllo. La differenza tra le mediane dei 2 gruppi non risultava essere statisticamente significativa (P = 0,9045).

Lo stress post-operatorio è risultata essere di: mediana 2,10 cm (I IRQ 1,00 – III IRQ 4,99) nel gruppo test; mediana 5,00 cm (I IRQ 2,90 – III IRQ 6,20) nel gruppo controllo. La differenza tra le mediane dei 2 gruppi risultava essere statisticamente significativa (P = 0,0083).

L'incapacità alla masticazione è risultata essere di: mediana 6,00 cm (I IRQ 3,90 – III IRQ 7,00) nel gruppo test; mediana 6,00 cm (I IRQ 5,90 – III IRQ 8,00) nel gruppo controllo. La differenza tra le mediane dei 2 gruppi risultava non essere statisticamente significativa (P = 0,9362).

Il discomfort post-operatorio è risultato essere di: mediana 3,90 cm (I IRQ 2,10 – III IRQ 4,00) nel gruppo test; mediana 6,00 cm (I IRQ 4,00 – III IRQ 8,00) nel gruppo controllo. La differenza tra le mediane dei 2 gruppi risultava non essere statisticamente significativa (P = 0,50926).

Il sanguinamento post-operatorio riportato dal paziente è risultato essere di: mediana 1,00 cm (I IRQ 0,00 – III IRQ 3,00) nel gruppo test; mediana 2,00 cm (I IRQ 1,00 – III IRQ 3,00)

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

nel gruppo controllo. La differenza tra le mediane dei 2 gruppi risultava non essere statisticamente significativa ($P = 0,62414$).

Il consumo di antidolorifici durante il decorso post-operatorio riferito dai pazienti è stato in media di 1400,00 mg ($\pm 1,613$ DS) nel gruppo test e di 1982,75 mg ($\pm 2142,93$ DS) nel gruppo controllo. La differenza tra le medie dei 2 gruppi risultava non essere statisticamente significativa ($P = 0,3255$).

Tra i risultati secondari, nessun evento avverso (necrosi, ematoma, infezione, alterazioni della sensibilità) è stato riportato dall'esaminatore indipendente durante i controlli clinici avvenuti a 3, 14, 30 e 90 giorni.

Il tempo chirurgico non ha presentato differenze significative tra i due gruppi dello studio. Nel gruppo Test il tempo di intervento medio è stato di 50 ± 5 minuti mentre nel gruppo Controllo di 48 ± 6 minuti ($P > 0,05$).

Lo spessore medio del palato non ha mostrato nessuna differenza statisticamente significativa: $2,35 \pm 0,5$ mm Gruppo Test e $2,30 \pm 0,5$ mm Gruppo Controllo ($P > 0,05$).

Tra i due gruppi studio non c'è alcuna differenza statisticamente significativa in relazione a ogni dimensione relativa al prelievo connettivale. Nel gruppo Test lo spessore medio dell'innesto è stato di $1,4 \pm 0,2$ mm mentre nel gruppo controllo di $1,43 \pm 0,3$ mm ($P > 0,05$).

Tab 1: dati relativi alla morbidità post-operatoria del paziente

Parametri	Gruppo TEST	Gruppo CONTROLLO	p value
Dolore sito innesto*	2,00 (1,10 - 5,20)	1,90 (1,00 - 4,90)	NS
Dolore sito prelievo*	2,00 (1,20 - 2,90)	6,20 (3,30 - 8,00)	p = 0,027
Discomfort*	3,90 (2,10 - 4,00)	6,00 (4,00 - 8,00)	NS
Stress*	2,10 (1,00 - 5,00)	5,00 (2,90 - 6,20)	p = 0,0083
Inabilità alla masticazione*	6,00 (3,90 - 7,00)	6,00 (5,90 - 8,00)	NS
Sanguinamento (giorni) ^o	1,00 (0,00 - 3,00)	2,00 (1,00 - 3,00)	NS
Pain killers [§]	1400,00 \pm 1,613	1982,75 \pm 2142,93	NS

* VAS Median (I IRQ – III IRQ)

^o Giorni

[§] mg Mean \pm SD

Conclusione

I risultati riportati in questo studio non evidenziano differenze statisticamente significative tra il gruppo test ed il gruppo controllo per ciò che riguarda l'inabilità alla masticazione e il

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

dolore in corrispondenza del sito d'innesto; quest'ultimo risultato era prevedibile in quanto il trattamento nel sito di innesto è stato il medesimo in entrambi i gruppi.

Risulta invece statisticamente significativa a favore del gruppo test la differenza tra i due gruppi per ciò che concerne lo stress post-operatorio e il dolore nel sito di prelievo palatino. Tutti gli altri parametri analizzati mostrano risultati a favore del gruppo test anche se le differenze non sono statisticamente significative.

Sono necessari ulteriori studi per confermare l'ipotesi che le membrane di PRF possano ridurre la morbilità post-operatoria del paziente dopo prelievo epitelio-connettivale dal palato senza condizionare i tempi d'intervento.

Bibliografia

1. Wennstrom, J. L. (1994) Proceedings of the 1st European workshop on periodontology. In: Mucogingival surgery, eds. Lang, N. P. & Karring, T., pp. 193–209. Berlin: Quintessence Publishing Co.
2. Cortellini P, Tonetti M, Baldi C, Francetti L, Rasperini G, Rotundo R, Nieri M, Franceschini D, Labriola A, PiniPrato GP. Does placement of a connective tissue graft improve the outcomes of coronally advanced flap for coverage of single gingival recessions in upper anterior teeth? A multi-centre, randomized, double-blind, clinical trial. *J Clin Periodontol* 2009;36:68-79.
3. Edel, A. (1974) Clinical evaluation of free connective tissue grafts used to increase the width of keratinised gingival. *Journal of Clinical Periodontology* 1, 185–196.
4. Hurzeler, M. B. & Weng, D. (1999) A single-incision technique to harvest subepithelial connective tissue grafts from the palate. *The International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 19, 279–287.
5. Lorenzana, E. R. & Allen, E. P. (2000) The single-incision palatal harvest technique: a strategy for aesthetics and patient comfort. *The International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 20, 297–305
6. Harris RJ. Histologic evaluation of connective tissue grafts in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent.*2003 Dec;23(6):575-83.
7. Zucchelli G, Mele M, Stefanini M, Mazzotti C, Marzadori M, Montebugnoli L, de Sanctis M. Patient morbidity and root coverage outcome after subepithelial connective tissue and de-epithelialized grafts: a comparative randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2010; 37: 728–738.
8. Del Pizzo, M., Modica, F., Bethaz, N., Priotto, P. & Romagnoli, R. (2002) The connective tissue graft: a comparative clinical evaluation of wound healing at the palatal donor site. A preliminary study. *Journal of Clinical Periodontology* 29: 848–854.
9. Jahnke, P. V., Sandifer, J. B., Gher, M. E., Gray, J. L. & Richardson, A. C. (1993) Thick free gingival and connective tissue autografts for root coverage. *Journal of Periodontology* 64,315–322.
10. Griffin TJ, Cheung WS, Zavras AI, Damoulis PD (2006) “Post-operative complications following gingival augmentation procedures. *J Periodontol*”77(12):2070–2079

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SIdP

11. Wessel JR1, Tatakis DN. Patient outcomes following subepithelial connective tissue graft and free gingival graft procedures. *J Periodontol.* 2008 Mar;79(3):425-30. doi: 10.1902/jop.2008.070325 .
12. Shayesteh YS, Eshghyar N, Moslemi N, Dehghan MM, Motahhary P, Ghobadi Z, Golestan B. The effect of platelet-rich plasma on healing of palatal donor site following connective tissue harvesting: a pilot study in dogs. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2012 Jun;14(3):428-33. doi: 10.1111/j.1708-8208.2009.00263.x. Epub 2010 Feb 3.
13. Yen CA, Griffin TJ, Cheung WS, Chen J. Effects of platelet concentrate on palatal wound healing after connective tissue graft harvesting. *J Periodontol.* 2007 Apr;78(4):601-10.
14. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Dohan DM. (2006) Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006 Mar;101(3):e56-60.
15. Giannini S, Cielo A, Bonanome L, Rastelli C, Derla C, Corpaci F, Falisi G. Comparison between PRP, PRGF and PRF: lights and shadows in three similar but different protocols. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2015;19(6):927-30. Review.
16. Hjerstad MJ1, Fayers PM, Haugen DF, Caraceni A, Hanks GW, Loge JH, Fainsinger R, Aass N, Kaasa S; European Palliative Care Research Collaborative (EPCRC). Studies comparing Numerical Rating Scales, Verbal Rating Scales, and Visual Analogue Scales for assessment of pain intensity in adults: a systematic literature review. *J Pain Symptom Manage.* 2011 Jun;41(6):1073-93. doi: 10.1016/j.jpainsymman.2010.08.016.

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

PARODONTITE E CONTA PIASTRINICA: UN NUOVO POTENZIALE NESSO CON LA MALATTIA CARDIOVASCOLARE ATEROSCLEROTICA *PERIODONTITIS AND PLATELET COUNT: A NEW POTENTIAL LINK WITH ATHEROSCLEROTIC CARDIOVASCULAR DISEASE*

Mario Romandini¹⁻²; Giacomo Baima⁵; Pierluigi Romandini⁴; Andreina Lafori¹⁻³; Massimo Cordaro¹

¹CdL in Odontoiatria e Protesi Dentaria, Università Cattolica del Sacro cuore, Roma; ²Alumno EFP nel Programma di Specializzazione in Parodontologia, Universidad Complutense, Madrid; ³Reperto di Parodontologia e Protesi, Presidio odontoiatrico "G. Eastman", Policlinico "Umberto I", Roma; ⁴Faculté d'Odontologie, Université Claude Bernard Lyon 1, Lione; ⁵Dipartimento di Scienze Chirurgiche, C.I.R. Dental School, Università di Torino, Torino

Abstract

Aim: As an infection-driven inflammatory disease, periodontitis could lead to a reactive increase in platelet count. This mechanism could partially mediate the well documented association between periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease. The aim of this cross-sectional study was to test the presence of an association between periodontitis and platelet count in a representative sample of the South Korea population.

Materials and Methods: A total of 5,732 subjects representative of 38.8 million of adults were examined. Multivariate regressions analyses were applied controlling for age, gender, smoking status, educational level, body mass index, alcoholism, diabetes and hypertension status, Vitamin D serum levels and total cholesterol, triglycerides, HDL and LDL blood levels.

Results: Compared to the non-severe periodontitis group, subjects with severe periodontitis (CPI=4) displayed 13,048.93 more platelets for μL of blood (95% CI: 3,296.26–22,801.61, $p=0.009$) in the fully-adjusted model. The association has shown to be highlighted in subjects aged more than 60, females, non smokers and normal HDL blood levels. A systemic inflammatory biomarker (WBC Count) explained 19.28% of this association.

Conclusions: In this large nationally-representative sample, periodontitis is independently associated with a considerable increase in platelet count which is explained, at least in part, by an increase in systemic inflammation.

Sinossi

Obiettivo: In qualità di processo infettivo-infiammatorio cronico, la parodontite potrebbe determinare una trombocitosi reattiva, evento capace di mediare parzialmente la sua ben documentata associazione con le malattie cardiovascolari. Questo studio trasversale ha investigato la presenza di una associazione tra parodontite e conta piastrinica in un campione rappresentativo della popolazione della Corea del Sud.

Materiali e metodi: Sono stati esaminati 5.732 soggetti rappresentativi di 38,8 milioni di persone e condotte analisi di regressione multivariate controllate per età, sesso, abitudine al fumo, educazione, indice di massa corporea, alcolismo, diabete e ipertensione, livelli serici di vitamina D, di colesterolo totale, trigliceridi, HDL e LDL.

Risultati: Rispetto al gruppo controllo, i soggetti con parodontite severa (CPI=4) hanno mostrato 13.048,93 piastrine in più per μL di sangue (IC 95%: 3.296,26–22.801,61; $p=0,009$) nel modello multivariato finale. Questa associazione si è dimostrata maggiore nei soggetti con più di 60 anni, di sesso femminile, non fumatori e con livelli normali di HDL plasmatiche. La conta leucocitaria, un

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

marcatore di infiammazione sistemica, ha spiegato il 19,28% dell'associazione.

Conclusioni: In questo ampio campione rappresentativo di popolazione, la parodontite si è dimostrata associata in maniera indipendentemente ad un incremento nella conta piastrinica spiegato, almeno in parte, da un aumento dell'infiammazione sistemica.

1. Introduzione

La parodontite è stata indipendentemente associata alle malattie cardiovascolari, ma anche al cancro e alla mortalità (Tonetti & Van Dyke 2013; Michaud et al. 2017; Kebede et al. 2017). Si ritiene che l'aumento dell'infiammazione sistemica sia uno dei principali meccanismi coinvolti (D'Aiuto et al. 2004; Gocke et al. 2014), sebbene la cascata degli eventi biologici implicati non sia ancora stata chiarita nel dettaglio (Tonetti & Van Dyke 2013; Schenkein & Loos 2013).

Le piastrine giocano un ruolo importante nella formazione dei trombi e nella malattia cardiovascolare aterosclerotica. Sulla base di questo razionale, alcuni studi epidemiologici prospettici hanno mostrato come degli squilibri nel numero (trombocitosi), nel volume o nell'attivazione delle piastrine siano associati con l'insorgenza di malattia coronarica acuta (Vinholt et al. 2016). Inoltre, la trombocitosi è stata associata con lo sviluppo di tromboembolismo venoso, ictus, cancro e infine con la mortalità (Thaulow et al. 1991; Davì and Patrono 2007; Vinholt et al. 2016; Zhan et al. 2016; Kabat et al. 2017). Per questi motivi, i farmaci antiaggreganti piastrinici rappresentano la prima linea terapeutica nella gestione delle sindromi ischemiche acute e nella prevenzione delle recidive (Patrono et al. 2005 e 2017).

Allo stesso tempo, è ben noto come i processi infettivi e infiammatori possano portare ad un aumento nel numero delle piastrine, un fenomeno chiamato “trombocitosi reattiva” (Zareifar et al. 2014). Questo viene definito come un incremento nella conta piastrinica non causato da disordini mieloproliferativi o mielodisplastici, e rappresenta la causa più comune di trombocitosi nella popolazione generale (Santhosh-Kumar et al. 1991). Il suddetto fenomeno è probabilmente imputabile al ruolo che le piastrine giocano nell'infiammazione e nella risposta immune (Semple et al. 2011) ed è dunque ragionevole ipotizzare che anche la parodontite, una patologia infiammatoria ad eziologia infettiva, possa condurre ad un aumento delle piastrine circolanti.

La nostra ipotesi è che la parodontite causi un incremento nel numero dei trombociti e che questo evento medi la ben documentata associazione tra parodontite e malattia aterosclerotica (Figura 1). Mentre la seconda parte di questa ipotesi è già supportata da sufficiente evidenza scientifica, nessuno studio epidemiologico rappresentativo di popolazione ha mai preso in considerazione l'esistenza di un'associazione tra conta piastrinica e parodontite.

Per le suddette ragioni, l'obiettivo di questo studio trasversale è stato testare la prima parte della nostra ipotesi. I dati prelevati dal KNHANES sono stati analizzati per verificare la presenza di un'associazione tra parodontite e conta piastrinica in un campione rappresentativo dell'intera popolazione sud-coreana.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Figura 1. Modello di causalità ipotizzata nella relazione tra le due variabili di studio (parodontite e conta piastrinica) e la malattia cardiovascolare aterosclerotica (MCA). Solo la prima parte dell'ipotesi (effetto della parodontite sulla conta piastrinica) è stata oggetto del presente lavoro.

IPOTESI di RICERCA



2. Materiali e Metodi

Questo studio trasversale è stato riportato in accordo alle linee guida STROBE (STrengthening the Reporting of OBServational studies in Epidemiology) (von Elm et al. 2007, Vandembroucke et al. 2007).

2.1 Campione analizzato: KNHANES 2012

I dati per questo studio sono stati ottenuti dalla sezione 2012 del quinto “Korea National Health And Nutrition Examination Survey” (KNHANES V). Il KNHANES è uno studio trasversale promosso dal “Korea Centre for Disease Control and Prevention” (KCDC) e condotto su un campione annualmente rappresentativo del totale della popolazione sud coreana non istituzionalizzata (Kweon et al. 2014).

2.1.1 Metodi di campionamento

Il KNHANES prevede un protocollo di campionamento stratificato con un modello di campioni a rotazione. Per il survey del 2012, sono state selezionate 192 unità di campionamento primario (UCP) da 200.000 aree definite geograficamente nell'intera Corea del Sud. Venti nuclei familiari finali sono stati in seguito scelti per ogni UCP individuato utilizzando un campionamento sistematico, per un totale di 3.840 nuclei familiari. Tutti gli individui di età superiore ad 1 anno appartenenti a tali nuclei familiari sono stati inclusi nell'analisi (KNHANES 2015).

A fini statistici, i pesi relativi dei campioni sono stati bilanciati per i partecipanti di modo da poter rappresentare l'intera popolazione della Corea del Sud, considerando il disegno complesso del survey, il tasso di non risposta e la post-stratificazione (per sesso e età).

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

2.1.2 Contenuto del survey

Il KNHANES consiste di tre parti: l'intervista sulla salute, l'esame fisico e il sondaggio sull'alimentazione. Ulteriori informazioni circa il disegno e i metodi sono disponibili in letteratura (KCDC 2012, Kim 2014, Kweon et al. 2014, KNHANES 2015).

Il survey del 2012 è stato eticamente approvato dal KCDC Institutional Review Board (2012-01EXP-01-2C) e ogni partecipante ha firmato un consenso informato.

2.2 Determinazione delle variabili di studio

2.2.1 Conta piastrinica

La conta piastrinica è stata misurata con il metodo DC (XE-2100D - Sysmex/Japan) su campioni di sangue dei partecipanti. Per le analisi, la conta piastrinica è stata mantenuta sia come variabile continua (N/ μ L) sia categorizzata in quartili come segue: Q1, ≤ 214.000 ; Q2, 215.000–248.000; Q3, 249.000–288.000; Q4, ≥ 289.000 (N/ μ L).

2.2.2 Parodontite

Nel KNHANES 2012, 30 dentisti calibrati hanno esaminato lo stato parodontale dei partecipanti usando il Community Periodontal Index (CPI; World Health Organization 1997). Le misurazioni sono state ottenute attraverso il “walking probing method” con una sonda CPI avente una punta rotonda del diametro di 0,5 mm. Durante le sessioni di calibrazione, gli esaminatori sono stati istruiti ad usare una forza di 20 g. Nel quarto test di screening simulato, la media dei valori Kappa inter-esaminatore per lo status parodontale è risultato essere di 0,72 (range 0,20–1,00; DS=0,19) (KCDC 2013).

La dentizione è stata divisa in sestanti. Ogni sestante è stato esaminato solo se erano presenti due o più denti non programmati per l'estrazione. Per l'analisi sono stati considerati dieci denti rappresentativi: #17, #16, #11, #26, #27, #37, #36, #31, #46, #47 (sistema FDI). Qualora i denti rappresentativi fossero assenti in un sestante, veniva esaminato il dente adiacente.

Al Community Periodontal Index sono stati dati valori da 0 a 4 come segue: 0 (sano), 1 (sanguinamento gengivale al sondaggio), 2 (tartaro), 3 (PPD tra 3,5 e 5,5 mm) e 4 (PPD > 5,5 mm). Il più alto valore di ogni sestante è stato registrato come il valore del sestante.

Per la presente analisi, lo stato parodontale a livello del partecipante è stato dicotomizzato in “parodontite” (CPI ≥ 3 in almeno un sestante) e “no parodontite” (CPI ≤ 2 in tutti i sestanti). Un'ulteriore analisi è stata condotta usando il deep pocketing (CPI=4 in almeno un sestante) per selezionare i casi di “parodontite severa”.

2.3 Analisi statistiche

Tutte le analisi statistiche sono state condotte con la versione 21.0 del software SPSS (IBM Corp, Armonk, NY, USA), utilizzando le procedure di analisi per campioni complessi (Kim et al. 2013). Nel dettaglio, sono stati considerati la stratificazione, il raggruppamento e l'appropriato bilanciamento del campione in modo da permettere la generalizzazione dei risultati all'intera popolazione della Corea del Sud. Tutti i p-value riportati sono a due code, e

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

la significatività è stata stabilita a priori come $p < 0,05$. I dati mancanti sono stati gestiti mediante analisi dei casi completi con aggiustamento per le co-variate (Groenwold et al. 2012).

In ciascun modello di regressione lineare, la linearità della variabile “conta piastrinica” è stata testata in relazione allo stato parodontale utilizzando la tecnica degli “effetti dell’esposizione quadratica” ed i relativi p-values sono stati riportati (Kirkwood & Sterne 2003).

2.3.1 *Statistica descrittiva e associazione univariata*

Le caratteristiche descrittive riguardo ciascuna co-variata sono state riassunte per l’intera popolazione e categorizzate in accordo allo stato parodontale. Le variabili categoriali sono state riportate come conteggio non pesato (% pesata), mentre le variabili continue come medie pesate (Deviazione Standard Relativa - DSR).

In seguito, sono state ottenute le stime preliminari (Odds Ratios - OR - o differenza nelle medie - DM) riportate assieme al rispettivo intervallo di confidenza al 95% (IC) e ai p-values derivati da un test di Wald, di modo da valutare l’associazione “cruda” tra la presenza di parodontite e la conta piastrinica.

2.3.2 *Analisi di regressione multivariate*

Sono state successivamente eseguite analisi di regressione multivariate lineari e logistiche in modo da esaminare la associazione tra la parodontite e la conta piastrinica, aggiustata per i potenziali fattori di confusione selezionati in accordo alla conoscenza esterna utilizzando i seguenti 3 modelli:

1. Modello 1: età e sesso;
2. Modello 2: Modello 1 + abitudine al fumo, livello di educazione, indice di massa corporea, alcolismo, stato di ipertensione e livelli serici di vitamina D;
3. Modello 3: Modello 2 + stato diabetico e colesterolo totale, trigliceridi, livelli sanguigni di HDL e LDL.

Le stime (IC 95%) ottenute dalle analisi di regressione multivariate sono state riportate, così come i valori p derivati dai rispettivi test di Wald.

2.3.3 *Modificatori di effetto*

Allo scopo di verificare l’eterogeneità dell’effetto della parodontite sulla conta piastrinica (variabile continua), i termini moltiplicativi di interazione tra ciascuna co-variata (escludendo la conta leucocitaria) e la parodontite sono stati inseriti separatamente nel modello multivariato finale. In presenza di interazione per una co-variata, è stata eseguita la relativa analisi sub-gruppo in aggiunta a quelle pianificate a priori (età, sesso e abitudine tabagica). Ciascun modificatore di effetto è stato escluso dal proprio modello multivariato per sub-gruppo, con eccezione dell’età.

2.3.4 *Mediatori*

Avendo ipotizzato una conta piastrinica aumentata nei pazienti parodontali attraverso un

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

aumento dell'infiammazione sistemica, abbiamo testato come potenziale mediatore dell'associazione il principale biomarker infiammatorio sistemico raccolto nel KNHANES 2012: la conta leucocitaria (WBC).

Il suo ruolo è stato valutato come “percentuale di eccesso di rischio spiegata”, adattando al tipo di stima del presente studio (differenza nelle medie) la formula proposta in altri studi (Szklo & Nieto 2012, Han et al. 2013, Romandini et al. 2017). Il ruolo della conta leucocitaria è stato quindi calcolato come segue: $[(DM(\text{modello multivariato finale}) - DM(\text{modello multivariato finale} + \text{conta leucocitaria})) / (DM(\text{modello multivariato finale}) - 1)]$.

3. Risultati

Nel KNHANES 2012, la strategia di campionamento ha dato origine alla selezione di 10.069 persone: tra queste, 8.058 (80%) hanno accettato di partecipare. Di questi partecipanti, 7.645 hanno partecipato sia al questionario sulla salute sia alla visita (75,9% del totale). Come precedentemente esposto, il campione finale è stato pesato tenendo in considerazione questo tasso di non risposta.

La presente analisi ha incluso solo i partecipanti che hanno ricevuto sia la visita parodontale che la stima della conta piastrinica, per un totale di 5.732 partecipanti rappresentativi di 38,8 milioni di persone.

3.1 Statistica descrittiva e associazione univariata

La Tabella 1 fornisce la statistica descrittiva dei partecipanti dello studio, sia totale sia categorizzata per lo stato parodontale (entrambe le definizioni - CPI \geq 3 e CPI=4).

1.327 partecipanti avevano la parodontite definita come CPI \geq 3 (N. pesato 7.824.206 - 20,2%) e 323 partecipanti avevano la parodontite definita come CPI=4 (N. pesato 1.767.152 - 4,6%), mentre la conta piastrinica media era di 255.081,01 (0,004) per μ L di sangue.

Nel modello “crudo”, la conta piastrinica è risultata inversamente associata alla parodontite definita come CPI \geq 3 (DM = -5.046,38, 95% IC: -9,229,12 — -863,64 p=0,018) e non associata con la parodontite severa, definita come CPI=4 (DM = 2.361,16 , 95% IC: -6.185,51— 10.907,824, p>0,05) (Tabella 2).

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Tabella 1. Caratteristiche della popolazione in esame, sia generali che in accordo allo stato parodontale

	CPI ≥ 3		CPI = 4		
	Totale*	No Parodontite [†]	Parodontite [†]	No Parodontite Severa ^{††}	Parodontite Severa ^{††}
Conta piastrinica (10³/μL), media (RSD)	255.081,01 (0,004)	256.098,42 (0,005)	251.052,04 (0,008)	254.973,50 (0,005)	257.334,66 (0,017)
Quartili della conta piastrinica, N (%)					
Q1 (≤ 214.000/μL)	1420(23,1)	1038 (22,3)	382 (26,3)	1337 (23,0)	83 (24,3)
Q2 (215.000-248.000/μL)	1432 (26,2)	1115 (26,4)	317 (25,3)	1368 (26,6)	64 (18,4)
Q3 (249.000-288.000/μL)	1449 (25,4)	1132 (25,4)	317 (25,1)	1357 (25,1)	92 (30,6)
Q4 (≥289.000/μL)	1431 (25,3)	1120 (25,8)	311 (23,3)	1347 (25,3)	84 (26,7)
Età (anni), media (RSD)	41,90 (0,009)	38,78 (0,010)	54,25 (0,011)	41,20 (0,009)	56,45 (0,019)
Gruppi di età, N (%)					
≤ 50 anni	3101 (67,7)	2753 (74,5)	348 (41,1)	3036 (69,5)	65 (30,1)
51 - 60 anni	1037 (16,7)	688 (13,8)	349 (28,2)	942 (15,8)	95 (36,2)
≥ 60 anni	1594 (1,6)	964 (11,8)	630 (30,6)	1431 (14,7)	163 (33,7)
Sesso, N (%)					
Uomini	2498 (50,8)	1805 (48,3)	693 (60,5)	2317 (50,4)	181 (58,6)
Donne	3234 (49,2)	2600 (51,7)	634 (39,5)	3092 (49,6)	142 (41,4)
Fumo, N (%)					
Non fumatori	4044 (74,6)	3087 (76,0)	957 (69,8)	3817 (74,8)	227 (70,6)
Attuali fumatori	958 (25,4)	650 (24,0)	308 (30,2)	882 (25,2)	76 (29,4)

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

	Totale*	CPI ≥ 3		CPI = 4	
		No Parodontite [†]	Parodontite [†]	No Parodontite Severa ^{††}	Parodontite Severa ^{††}
Livello di educazione, N (%)					
Scuola elementare	1481 (19,6)	991 (17,0)	490 (30,1)	1358 (18,8)	123 (36,4)
Scuola media	731 (13,3)	515 (12,4)	216 (16,7)	675 (12,9)	56 (21,8)
Scuola superiore	1749 (37,7)	1406 (38,8)	343 (33,7)	1672 (38,3)	77 (26,6)
Università o college	1571 (29,4)	1351 (31,8)	220 (19,5)	1524 (30,0)	47 (15,2)
BMI (kg/m²), media (RSD)	23,52 (0,003)	23,31 (0,004)	24,36 (0,006)	23,46 (0,003)	24,68 (0,016)
Alcolismo (AUDIT score), media (RSD)	6,90 (0,019)	6,75 (0,022)	7,45 (0,037)	6,84 (0,019)	8,00 (0,074)
Stato ipertensivo, N (%)					
Normale	2200 (48,4)	1793 (51,7)	407 (37,0)	2127 (49,3)	73 (30,9)
Pre ipertensione	1218 (26,1)	907 (26,1)	311 (25,9)	1141 (26,1)	77 (26,0)
Ipertensione	1557 (25,5)	1015 (22,2)	542 (37,1)	1406 (24,6)	151 (43,1)
Livelli sierici di vitamina D (ng/dL), media (RSD)	16,76 (0,013)	16,34 (0,014)	18,43 (0,017)	16,66 (0,013)	18,83 (0,028)
Stato diabetico, N (%)					
Normale	3415 (73,1)	2686 (76,8)	729 (60,5)	3258 (73,9)	157 (58,1)
IFG	1009 (19,0)	704 (17,5)	305 (24,0)	938 (18,8)	71 (21,7)
Diabete	500 (7,9)	285 (5,7)	215 (15,4)	430 (7,3)	70 (20,2)

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

	CPI ≥ 3		CPI = 4		
	Totale*	No Parodontite†	Parodontite†	No Parodontite Severa††	Parodontite Severa††
Livelli di colesterolo ematici totali (mg/dL), media (RSD)	185,37 (0,004)	183,75 (0,005)	191,76 (0,006)	185,10 (0,004)	191,02 (0,012)
Trigliceridi ematici totali (mg/dL) , media (RSD)	129,47 (0,018)	123,36 (0,020)	154,64 (0,028)	128,32 (0,019)	153,40 (0,044)
Livelli ematici HDL (mg/dL) , media (RSD)	50,38 (0,005)	51,15 (0,006)	47,34 (0,009)	50,53 (0,005)	47,21 (0,019)
Livelli ematici LDL (mg/dL), media (RSD)	111,46 (0,005)	110,11 (0,006)	116,83 (0,008)	111,25 (0,005)	115,89 (0,016)
Conta leucocitaria (10³/μL), media (RSD)	5,99 (0,006)	5,92 (0,007)	6,27 (0,010)	5,97 (0,006)	6,40 (0,021)

Note:

**Totale: n=38.808,363,*

†CPI≥3 - Senza parodontite: n=30.984,156 -Parodontite: n=7.824,207,

††CPI=4 - Senza parodontite severa: n=37.041,211 – Parodontite severa: n=1.767,152,

I dati sono presentati come N non pesati (% pesata) per quanto riguarda le variabili categoriali, mentre come media pesata (DS relative pesata) per quanto riguarda le variabili continue.

N è il numero non pesato di partecipanti in ciascun sub-gruppo; la somma degli N varia a seconda dei dati mancanti per ciascuna variabile.

SESSIONE "PREMIO H.M. GOLDMAN 2018"

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Tabella 2. DM aggiustate (IC 95%) ed OR (IC 95%) per i valori di conta piastrinica e per i quartili di conta piastrinica (rispettivamente) secondo la prevalenza della parodontite (sia CPI ≥ 3 che CPI =4)

	CPI ≥ 3				CPI = 4			
	Crudo	Modello 1	Modello 2	Modello 3	Crudo	Modello 1	Modello 2	Modello 3
Valori di conta piastrinica	-	5.977,32	5.459,59	5.312,45	2.361,16	11.945,3	10.622,1	13.048,9
	5.046,38	*	*	*	(-	7**	2*	3**
	(-	(1.106,4	(561,26/	(393,87/	6.185,51/	(3.265,90	(1.374,01	(3.296,26
DM (IC 95%)	9.229,12	6/	10.357,9	10.231,0	10.907,8	/	/	/
	/-	10.848,1	2)	4)	2)	20.624,8	19.870,2	22.801,6
	863,64)	8)				4)	2)	1)
P per la non linearità	0,403	0,821	0,012	0,008	0,572	0,143	0,178	0,071
Quartili di conta piastrinica (ORs)								
Q1 ($\leq 214.000/\mu\text{L}$)	1 (REF)	1 (REF)	1 (REF)	1 (REF)	1 (REF)	1 (REF)	1 (REF)	1 (REF)
Q2 (215.000-248.000/ μL)	0,812 (0,658/1,003)	0,990 (0,782/1,253)	1,047 (0,799/1,372)	1,047 (0,796/1,377)	0,656† (0,437/0,986)	0,786 (0,520/1,189)	0,815 (0,522/1,272)	0,890 (0,561/1,410)
Q3 (249.000-288.000/ μL)	0,839 (0,665/1,059)	1,214 (0,938/1,572)	1,174 (0,870/1,585)	1,162 (0,855/1,579)	1,152 (0,749/1,773)	1,622† (1,044/2,518)	1,652 (0,992/2,751)	1,754† (1,033/2,978)
Q4 ($\geq 289.000/\mu\text{L}$)	0,766† (0,619/0,948)	1,283† (1,010/1,629)	1,302 (0,985/1,720)	1,303 (0,976/1,740)	1,001 (0,655/1,531)	1,591† (1,018/2,486)	1,549 (0,938/2,556)	1,745† (1,005/3,031)

Note:

Abbreviazioni: DM, differenza media; OR, odds ratio; IC, intervallo di confidenza.

Modello 1: aggiustato per età e sesso.

Modello 2: aggiustato per età e sesso, stato tabagico, livello di educazione, body mass index, alcolismo, stato ipertensivo e livelli sierici di vitamina D.

Modello 3 aggiustato per età e sesso, stato tabagico, livello di educazione, body mass index, alcolismo, stato ipertensivo e livelli sierici di vitamina D, stato diabetico e livelli ematici di colesterolo totale, trigliceridi, HDL e LDL.

* = statisticamente significativo DM ($p < 0,05$).

** = statisticamente significativo DM ($p < 0,01$).

† = statisticamente significativo OR ($p < 0,05$).

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

3.2 Analisi di regressione multivariate

Dopo aver controllato per i fattori di confusione, il rapporto di associazione si è invertito per la definizione di parodontite come $CPI \geq 3$, mentre è diventato significativo per la definizione di parodontite severa. Infatti, considerando età e sesso (modello 1) i soggetti con la parodontite hanno mostrato una conta piastrinica più elevata per entrambe le definizioni (Tabella 2). Aggiungendo ulteriori co-variate alle regressioni multivariate (modelli 2 e 3) le stime non sono cambiate significativamente, portando solamente a una perdita di potenza statistica. L'unica eccezione è stata per la parodontite severa nel modello 3, che ha raggiunto una DM di 13.048,93 (95% IC: 3.296,26—22.801,61; $p=0,009$).

I soggetti affetti da parodontite severa hanno mostrato una Odds Ratio di 1,75 (IC 95%: 1,01-3,03) di collocarsi nel più alto quartile della conta piastrinica rispetto ai soggetti affetti da parodontite non severa.

3.3 Modificatori di effetto

L'unica interazione significativa è stata riscontrata tra la parodontite severa e i livelli sanguigni bassi di HDL. Le analisi sub-gruppo per i bassi livelli sanguigni di HDL e quelle a priori (età, sesso e abitudini tabagica) vengono riportate nella Tabella 3. In particolare, nei partecipanti con livelli plasmatici normali di HDL, i soggetti con la parodontite severa hanno mostrato 19.030,48 piastrine in più per μL di sangue rispetto a coloro senza la parodontite severa (95% IC: 7.563,05 — 30.497,91; $p=0,001$).

Tabella 3. DMs aggiustate (IC 95%) per i valori di conta piastrinica secondo la prevalenza della parodontite (sia per $CPI \geq 3$ che per $CPI = 4$) nella popolazione totale e per ciascun sottogruppo

	CPI ≥ 3									
	Totale	Gruppi di età			Sesso		Attuale fumatore		Ipo-HDL	
		<50 anni	51-60 anni	>60 anni	Male	Female	No	Sì	No (≥ 40 mg/dL)	Sì (<40 mg/dL)
Valori di conta piastrinica										
DM (IC 95%)	5.312,4 5* (393,8 7/ 10.231, 04)	1.018,8 7 (- 6.117,7 7/ 8.155,5 2)	10.48 4,11* (107,3 7/ 20.86 0,85)	7.170, 01 (- 498,2 9/ 14.83 8,30)	4.719,7 3 (- 1.347,8 2/ 10.787, 27)	5.266,75 (- 2.444,93 / 12.978,4 4)	5.984,56 * (508,54/ 11.460,5 9)	4.168,17 (- 5.322,66 / 13.659,0 0)	3.327,36 (-2.008,35/ 8.663,07)	9.176,14 (-2.779,86/ 21.132,15)
P per la non linearità	0,008	0,085	0,366	0,771	0,004	0,341	0,047	0,076	0,056	0,037

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

CPI = 4

	Totale	Gruppi di età			Sesso	Attuale fumatore		Ipo-HDL		
		<50 anni	51-60 anni	>60 anni	Male	<50 anni	51-60 anni	>60 anni	Male	
Valori di conta piastrinica										
DM (IC 95%)	13.048, 93** (3.296, 26/ 22.801, 61)	11.374, 50 (- 4.355,7 5/ 27.104, 75)	7.874, 04 (- 6.560, 39/ 22.308 ,46)	18.89 1,31* (2.188 ,97/3 5.593, 66)	10.002, 66 (- 996,13/ 21.001, 46)	15.467,1 5* (-50,76/ 30.985,0 5)	14.035,4 0* (2.831,5 2/ 25.239,2 8)	11.045, 02 (- 4.885,5 5/ 26.975, 58)	19.030,48** (7.563,05/ 30.497,91)	-7.385,00 (- 23.922,12/ 9.152,12)
P per la non linearità	0,071	0,128	0,295	0,956	0,333	0,094	0,062	0,613	0,116	0,097

Note:

Abbreviazioni: DM, differenza media; IC, intervallo di confidenza.

Tutte le DM (IC 95%) riportate sono degli aggiustamenti multivariati relativi al modello 3 (età, sesso, stato tabagico, livello di educazione, body mass index, alcolismo, stato ipertensivo e livelli sierici di vitamina D, stato diabetico e livelli ematici di colesterolo totale, trigliceridi, HDL e LDL).

Ogni modificatore dell'effetto è stato escluso dal proprio modello multivariato sub-gruppo, eccetto l'età.

* = statisticamente significativo DM ($p < 0,05$).

** = statisticamente significativo DM ($p < 0,01$).

3.4 Mediatori

Nella tabella 4, vengono riportate le DM nella conta piastrinica tra la salute parodontale (entrambe le definizioni) del Modello 3, dopo l'aggiustamento per la conta leucocitaria come potenziale mediatore. La DM è risultata attenuata del 45,65% per il $CPI \geq 3$ (portando a una perdita di significatività statistica) e del 19,28% per la parodontite severa.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018
XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Tabella 4. Ruolo della conta leucocitaria nel mediare la relazione tra prevalenza di parodontite (sia per CPI ≥ 3 che per CPI = 4) e la conta piastrinica

	CPI ≥ 3		CPI=4	
	DM (95% CI)	% eccesso di rischio spiegato*	DM (95% CI)	% eccesso di rischio spiegato*
Modello Base (B)	5.312,45 (393,87/ 10.231,04)	-	13.048,93 (3.296,26/ 22.801,61)	-
B + conta leucocitaria	3.430,40 (-1.141,20/ 8.002,00)	43,65	10.725,58 (1.079,92/ 20.371,25)	19,28

Note:

Abbreviazioni: DM, differenza media; IC, intervallo di confidenza; B, modello base.

Il modello base (B) è un aggiustamento multivariato relativo al modello 3 (età, sesso, stato tabagico, livello di educazione, body mass index, alcolismo, stato ipertensivo e livelli sierici di vitamina D, stato diabetico e livelli ematici di colesterolo totale, trigliceridi, HDL e LDL).

4. Discussione

In questo studio, la parodontite, specialmente nella sua forma severa, si è dimostrata essere indipendentemente associata con un considerevole aumento nella conta piastrinica. Nello specifico, i soggetti affetti da parodontite severa hanno mostrato 13.049 piastrine in più per μL di sangue e una odds aumentata del 75% di collocarsi nel più alto quartile relativamente alla conta piastrinica. L'incremento dei livelli piastrinici nei partecipanti con la parodontite è risultato spiegato, almeno in parte, da un incremento dell'infiammazione sistemica (43,65% per CPI ≥ 3 e 19,28% per CPI=4). La nostra ipotesi di studio è stata dunque confermata.

Nel modello “crudo” si è riscontrata una associazione inversa statisticamente significativa tra la conta piastrinica e la prevalenza della parodontite (CPI ≥ 3), mentre non si è trovata alcuna associazione con la parodontite severa. Questa osservazione è indicativa di un profondo confondimento presente nel nostro campione. Età e sesso sono apparsi essere i principali fattori confondenti la associazione: il semplice aggiustamento per questi due fattori (modello 1) ha fatto virare entrambe le stime verso una associazione diretta statisticamente significativa. Per il CPI ≥ 3 , nessuna altra co-variata ha dimostrato di influenzare significativamente l'associazione, mentre per il CPI=4, la presenza di diabete e i livelli di lipidi sanguigni hanno fatto notevolmente incrementare la stima (modello 3).

Anche se le analisi sub-gruppo generalmente mancano di sufficiente potenza statistica, nel nostro campione è stato trovato un'associazione di effetto rilevante per alcune co-variate, specialmente per la definizione di caso CPI=4. L'associazione si è dimostrata particolarmente pronunciata nei soggetti con più di 60 anni, di sesso femminile, non fumatori e con livelli plasmatici normali di HDL. È interessante notare come quasi tutti questi sottogruppi siano quelli che vengono generalmente considerati a basso rischio per la malattia coronarica (non

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

fumatori, donne e livelli di HDL normali; D'Agostino et al. 2008). Anche se le percentuali variano consistentemente tra i diversi studi, viene attualmente accettato il fatto che una proporzione non trascurabile di soggetti con malattia coronarica non presenti nessuno dei fattori di rischio conosciuti (Braunwald 1997; Khot et al. 2003; D'Agostino et al. 2008). Allo stesso tempo, la conta piastrinica è stata consistentemente associata allo sviluppo di malattia coronarica (Vinholt et al. 2016). Basandoci su questi dati, si potrebbe quindi speculare che parte del rischio di andare incontro a questi eventi cardiovascolari inspiegabili possa essere attribuibile proprio alla parodontite severa, attraverso un aumento della conta piastrinica. Ad ogni modo, questa congettura necessita di essere verificata da ulteriori ricerche.

L'associazione tra parodontite e conta piastrinica si è dimostrata lineare per i modelli che comprendevano una definizione basata sul CPI=4, mentre spesso non lineare per i modelli CPI \geq 3. Inoltre, abbiamo individuato un marcatore infiammatorio sistemico (conta leucocitaria) che media parzialmente la associazione tra parodontite e conta piastrinica aumentata. Questa evidenza conferma il nostro paradigma concettuale iniziale e ci permette di approfondire i possibili meccanismi di questa associazione.

4.1 Possibili meccanismi e interpretazione nel contesto della letteratura

La trombocitosi reattiva in risposta ad un processo infettivo o infiammatorio è un meccanismo fisiologico. Nel caso della parodontite, devono essere presi in considerazione alcuni meccanismi peculiari.

In primo luogo, la batteriemia causata dalla parodontite può indurre uno stato di infiammazione cronica di basso grado, caratterizzato dall'elevazione di marker sistemici come IL-1, IL-6 e TNF- α (Loos 2005; Tonetti et al. 2013; Sanz et al. 2018). Tra questi, la IL-6 è riconosciuta come uno dei principali responsabili della produzione epatica di trombopoietina (Tpo) e conseguentemente di un'aumentata trombopoiesi (Hsu et al. 1999; Kaser et al. 2001; Kaushansky 2009).

Inoltre, al di là della loro funzione emostatica, le piastrine giocano un ruolo importante nella risposta immune e nella difesa dell'ospite dai batteri ed esprimono numerose molecole coinvolte nel processo di riconoscimento dell'antigene (Semple et al. 2011; Sreeramkumar et al. 2014; Kapur et al. 2015). In seguito alla batteriemia, le piastrine possono reagire direttamente aumentando in numero e in attivazione (Herzberg and Meyer 1996; Zhan et al. 2016; Bakogiannis et al. 2017).

In più, la malattia parodontale è caratterizzata istologicamente da vasculite e ulcerazione dell'epitelio che portano ad un sanguinamento gengivale, anche se di modesta entità (Page & Schroeder 1976; Seymour et al. 1993). Questo danno cronico può risultare in un incremento nei livelli circolanti di Tpo e nella trombocitosi (Kaushansky 2009; Ferreira et al. 2017).

Infine, non si può escludere un meccanismo di causalità inversa. Come componenti del network immunitario, le piastrine secernono alcune citochine che potrebbero svolgere un'azione nel modulare la patogenesi infiammatoria della distruzione parodontale (Semple et al. 2011; Grozovsky et al. 2015). Una condizione di trombocitosi non bilanciata potrebbe dunque potenzialmente influire sull'insorgenza e la progressione della parodontite.

Nessun'altra indagine epidemiologica rappresentativa di popolazione aveva esaminato in precedenza l'associazione tra parodontite e conta piastrinica, pertanto non ci è possibile operare un paragone diretto con la letteratura. Tuttavia, alcuni studi hanno investigato la malattia parodontale in relazione ad altri importanti marcatori di funzionalità piastrinica, come il volume e l'attivazione, mettendone in luce la plausibile interdipendenza (Papapanagiotou et al. 2009; Wang et al. 2015).

All'interno delle nostre analisi, la parodontite severa è risultata associata ad un incremento

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

maggiore nella conta piastrinica rispetto alla parodontite definita come $CPI \geq 3$, indicando una sorta di relazione dose-risposta. Questo risulta in accordo con alcuni studi che riportano un'infiammazione sistemica aumentata e una più alta incidenza di malattia cardiovascolare nei pazienti con le forme più severe di parodontite (Dietrich et al. 2013; Azizi et al. 2015).

4.2 Limitazioni e punti di forza

Il nostro studio presenta alcune limitazioni. In primo luogo, la definizione dei casi di parodontite nel KNHANES è stata stabilita sulla base del CPI. Questo approccio può risultare molto utile negli studi epidemiologici di grandi dimensioni a causa delle frequenti costrizioni logistiche ed economiche, ma può sovrastimare o sottostimare la presenza di malattia (Albandar 2011; Tran et al. 2014). Per mitigare questo effetto, abbiamo tuttavia effettuato le analisi sia sui casi di parodontite definiti da $CPI \geq 3$ che da $CPI = 4$. Un altro punto da considerare è che il disegno trasversale dello studio non permette di inferire un rapporto causale tra la parodontite e la conta piastrinica, ma soltanto un rapporto associativo. In più, sulla base della natura osservazionale del nostro studio, non è stato possibile fornire alcuna evidenza riguardo gli effetti della prevenzione o del trattamento della parodontite sulla conta piastrinica.

Ciononostante, il nostro studio presenta anche numerosi punti di forza. Innanzitutto, rappresenta il primo lavoro epidemiologico rappresentativo di popolazione volto ad investigare l'associazione tra parodontite e conta piastrinica, e a riscontrare una forte associazione dopo il controllo per fattori confondenti potenziali multipli.

Inoltre, le analisi sono state condotte su di un campione particolarmente ampio, rappresentativo di un'intera nazione e già consistentemente adoperato nella ricerca in ambito parodontale (es. Ahn et al. 2015; Romandini et al. 2017; Lee et al. 2018), permettendo in questo modo di generalizzare i risultati per lo meno all'intera popolazione della Corea del Sud. Le procedure di campionamento e i metodi di raccolta dei dati hanno inoltre permesso la minimizzazione delle possibilità di andare incontro a dei bias di selezione o informazione. Infine, tutte le criticità in ambito statistico (analisi per campioni complessi, gestione dei dati mancanti, identificazione dei modificatori di effetto, test formali di linearità, ecc.) sono state gestite in accordo all'orientamento della letteratura statistica attuale (Kim et al. 2013; Groenwold et al. 2012; Kirkwood & Sterne 2003).

4.3 Ricerche future

I risultati qui presentati aprono la strada verso ulteriori ipotesi e ricerche.

In primo luogo, questi risultati dovrebbero essere verificati in altre popolazioni in modo di poter provare la loro validità esterna, preferibilmente utilizzando l'attuale definizione di caso parodontale per la ricerca sui fattori di rischio (Tonetti & Claffey 2005).

In secondo luogo, dovrebbero essere attentamente investigati i meccanismi e i mediatori della associazione tra parodontite e conta piastrinica elevata.

In terzo luogo, sarebbero necessari studi longitudinali per provare la temporalità dell'associazione e per verificare se questa possa realmente mediare la relazione tra parodontite e malattia cardiovascolare.

Infine, nel caso questa nuova associazione venisse corroborata, si renderebbero indispensabili dei protocolli di intervento volti a verificare se la prevenzione o il trattamento della parodontite possa avere un effetto rilevante sui livelli di piastrine circolanti e se questo effetto si rifletta in una minor incidenza di malattia cardiovascolare aterosclerotica.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

5. Conclusioni

In questo campione rappresentativo di popolazione, la prevalenza della parodontite è risultata significativamente associata con un considerevole aumento della conta piastrinica. Inoltre, la presenza della parodontite severa ha risultato aumentare del 75% le odds di collocarsi nel più alto percentile di conta piastrinica.

Saranno necessari ulteriori lavori per verificare se questa trombocitosi reattiva rappresenti un meccanismo rilevante nel collegare la parodontite alla malattia cardiovascolare aterosclerotica.

Ringraziamenti

Gli autori vorrebbero ringraziare il KCDC per aver fornito i dati per questo studio. Gli autori vorrebbero altresì ringraziare i dottori Sanghui Kweon e Yoonjung Kim per aver fornito alcune preziose informazioni circa la modalità di raccolta dei dati.

Bibliografia

Ahn, Y. B., Shin, M. S., Byun, J. S. & Kim, H. D. (2015). The association of hypertension with periodontitis is highlighted in female adults: results from the Fourth Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *Journal of Clinical Periodontology* 42, 998–1005.

Albandar, J. M. (2011). Underestimation of periodontitis in NHANES surveys. *Journal of Periodontology* 82, 337–341.

Azizi, A., Sarlati, F., Bidi, M., Mansouri, L., Azaminejad, S.M.M., and Rakhshan, V. (2015). Effects of smoking severity and moderate and severe periodontitis on serum C-reactive protein levels: an age- and gender-matched retrospective cohort study. *Biomarkers* 20, 306–312.

Bakogiannis, C., Sachse, M., Stamatelopoulos, K., and Stellos, K. (2017). Platelet-derived chemokines in inflammation and atherosclerosis. *Cytokine*.

Braunwald, E. (1997). Shattuck lecture--cardiovascular medicine at the turn of the millennium: triumphs, concerns, and opportunities. *N. Engl. J. Med.* 337, 1360–1369.

D’Agostino, R.B., Vasan, R.S., Pencina, M.J., Wolf, P.A., Cobain, M., Massaro, J.M., and Kannel, W.B. (2008). General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation* 117, 743–753.

Davì, G., and Patrono, C. (2007). Platelet Activation and Atherothrombosis. *New England Journal of Medicine* 357, 2482–2494.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

D’Aiuto, F., Parkar, M., Andreou, G., Suvan, J., Brett, P.M., Ready, D., and Tonetti, M.S. (2004). Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J. Dent. Res.* *83*, 156–160.

Dietrich, T., Sharma, P., Walter, C., Weston, P., and Beck, J. (2013). The epidemiological evidence behind the association between periodontitis and incident atherosclerotic cardiovascular disease. *J. Periodontol.* *84*, S70-84.

Ferreira, L.L., Gomes, J.E., Sumida, D.H., Bonfim, S.R.M., Sivieri-Araújo, G., Guimarães, G., and Cintra, L.T.A. (2017). Diabetic Rats Present High Mean Platelet Count in the Presence of Oral Infections. *Braz Dent J* *28*, 548–551.

Gocke, C., Holtfreter, B., Meisel, P., Grotevendt, A., Jablonowski, L., Nauck, M., Markus, M. R. & Kocher, T. (2014). Abdominal obesity modifies long-term associations between periodontitis and markers of systemic inflammation. *Atherosclerosis* *235*, 351–357.

Groenwold, R. H., Donders, A. R., Roes, K. C., Harrell, F. E. Jr & Moons, K. G. (2012). Dealing with missing outcome data in randomized trials and observational studies. *American Journal of Epidemiology* *175*, 210–217.

Grozovsky, R., Giannini, S., Falet, H., and Hoffmeister, K.M. (2015). Regulating billions of blood platelets: glycans and beyond. *Blood* *126*, 1877–1884.

Han, D. H., Lee, H. J. & Lim, S. (2013). Smoking induced heavy metals and periodontitis: findings from the Korea National Health and Nutrition Examination Surveys 2008–2010. *Journal of Clinical Periodontology* *40*, 850–858.

Herzberg, M.C., and Meyer, M.W. (1996). Effects of oral flora on platelets: possible consequences in cardiovascular disease. *J. Periodontol.* *67*, 1138–1142.

Hsu, H.C., Tsai, W.H., Jiang, M.L., Ho, C.H., Hsu, M.L., Ho, C.K., and Wang, S.Y. (1999). Circulating levels of thrombopoietic and inflammatory cytokines in patients with clonal and reactive thrombocytosis. *J. Lab. Clin. Med.* *134*, 392–397.

Kabat, G.C., Kim, M.Y., Verma, A.K., Manson, J.E., Lin, J., Lessin, L., Wassertheil-Smoller, S., and Rohan, T.E. (2017). Platelet count and total and cause-specific mortality in the Women’s Health Initiative. *Ann Epidemiol* *27*, 274–280.

Kapur, R., Zufferey, A., Boilard, E., and Semple, J.W. (2015). Nouvelle Cuisine: Platelets Served with Inflammation. *The Journal of Immunology* *194*, 5579–5587.

Kaser, A., Brandacher, G., Steurer, W., Kaser, S., Offner, F.A., Zoller, H., Theurl, I., Widder, W., Molnar, C., Ludwiczek, O., et al. (2001). Interleukin-6 stimulates thrombopoiesis through thrombopoietin: role in inflammatory thrombocytosis. *Blood* *98*, 2720–2725.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Kaushansky, K. (2009). Determinants of platelet number and regulation of thrombopoiesis. *Hematology* 2009, 147–152.

KCDC – Korea Center for Disease Control and Prevention (2012). The Fifth Korea National Health and Nutrition Examination Survey [WWW document]. URL <https://knhanes.cdc.go.kr/> [accessed on 10 June 2015].

Kebede, T.G., Holtfreter, B., Kocher, T., Meisel, P., Dietrich, T., Biffar, R., Dörr, M., Völzke, H., and Pink, C. (2017). Association of Periodontal Destruction and Diabetes with Mortality. *J. Dent. Res.* 96, 56–63.

Khot, U.N., Khot, M.B., Bajzer, C.T., Sapp, S.K., Ohman, E.M., Brener, S.J., Ellis, S.G., Lincoff, A.M., and Topol, E.J. (2003). Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA* 290, 898–904.

Kim, Y., Park, S., Kim, N. S. & Lee, B. K. (2013). Inappropriate survey design analysis of the Korean National Health and Nutrition Examination Survey may produce biased results. *Journal of Preventive Medicine and Public Health* 46, 96–104.

Kim, Y. (2014). The Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES): current status and challenges. *Epidemiology and Health* 36, e2014002.

Kirkwood, B. R. & Sterne, J. A. C. (2003). *Essential Medical Statistics*, 2nd edition. Blackwell Science Ltd, Malden, MA.

KNHANES (2015). Korea National Health and Nutrition Examination Survey [WWW document] URL: <https://knhanes.cdc.go.kr/knhanes/eng/index.do> [accessed on 10 June, 2015].

Kweon, S., Kim, Y., Jang, M. J., Kim, Y., Kim, K., Choi, S., Chun, C., Khang, Y. H. & Oh, K. (2014). Data resource profile: the Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES). *International Journal of Epidemiology* 43, 69–77.

Lee, J.-H., Shin, Y.-J., Lee, J.-H., and Kim, H.-D. (2018). Association of toothbrushing and proximal cleaning with periodontal health among Korean adults: Results from Korea National Health and Nutrition Examination Survey in year 2010 and 2012. *J. Clin. Periodontol.*

Loos, B.G. (2005). Systemic markers of inflammation in periodontitis. *J. Periodontol.* 76, 2106–2115.

Michaud, D.S., Fu, Z., Shi, J., and Chung, M. (2017). Periodontal Disease, Tooth Loss, and Cancer Risk. *Epidemiol Rev* 39, 49–58.

Page, R.C., and Schroeder, H.E. (1976). Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab. Invest.* 34, 235–249.

Papapanagiotou, D., Nicu, E.A., Bizzarro, S., Gerdes, V.E.A., Meijers, J.C., Nieuwland, R., van der Velden, U., and Loos, B.G. (2009). Periodontitis is associated with platelet activation. *Atherosclerosis* 202, 605–611.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Patrono, C., García Rodríguez, L.A., Landolfi, R., and Baigent, C. (2005). Low-dose aspirin for the prevention of atherothrombosis. *N. Engl. J. Med.* *353*, 2373–2383.

Patrono, C., Morais, J., Baigent, C., Collet, J.-P., Fitzgerald, D., Halvorsen, S., Rocca, B., Siegbahn, A., Storey, R.F., and Vilahur, G. (2017). Antiplatelet Agents for the Treatment and Prevention of Coronary Atherothrombosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* *70*, 1760–1776.

Romandini, M., Gioco, G., Perfetti, G., Deli, G., Staderini, E., and Laforì, A. (2017). The association between periodontitis and sleep duration. *J. Clin. Periodontol.* *44*, 490–501.

Rottenstreich, A., Shai, E., Kleinstern, G., Spectre, G., Varon, D., and Kalish, Y. (2017). Assessment of procoagulant potential in patients with reactive thrombocytosis and its association with platelet count. *Eur. J. Haematol.*

Santhosh-Kumar, C.R., Yohannan, M.D., Higgy, K.E., and al-Mashhadani, S.A. (1991). Thrombocytosis in adults: analysis of 777 patients. *J. Intern. Med.* *229*, 493–495.

Sanz, M., Ceriello, A., Buysschaert, M., Chapple, I., Demmer, R.T., Graziani, F., Herrera, D., Jepsen, S., Leone, L., Madianos, P., et al. (2018). Scientific evidence on the links between periodontal diseases and diabetes: Consensus report and guidelines of the joint workshop on periodontal diseases and diabetes by the International Diabetes Federation and the European Federation of Periodontology. *J. Clin. Periodontol.* *45*, 138–149.

Schenkein, H.A., and Loos, B.G. (2013). Inflammatory mechanisms linking periodontal diseases to cardiovascular diseases. *J. Clin. Periodontol.* *40 Suppl 14*, S51-69.

Semple, J.W., Italiano, J.E., and Freedman, J. (2011). Platelets and the immune continuum. *Nat. Rev. Immunol.* *11*, 264–274.

Seymour, G.J., Gemmell, E., Reinhardt, R.A., Eastcott, J., and Taubman, M.A. (1993). Immunopathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: cellular and molecular mechanisms. *J. Periodont. Res.* *28*, 478–486.

Sreeramkumar, V., Adrover, J.M., Ballesteros, I., Cuartero, M.I., Rossaint, J., Bilbao, I., Náchér, M., Pitaval, C., Radovanovic, I., Fukui, Y., et al. (2014). Neutrophils scan for activated platelets to initiate inflammation. *Science* *346*, 1234–1238.

Szklo, M. & Nieto, J. (2012). *Epidemiology: Beyond the BASICS*, 3rd edition, pp. 185–226. Burlington, VT: Jones & Bartlett Learning.

Thapa, S.D., Hadid, H., Imam, W., Hassan, A., Usman, M., Jafri, S.-M., and Schairer, J. (2015). Persistent Reactive Thrombocytosis May Increase the Risk of Coronary Artery Disease Among Inflammatory Bowel Disease Patients. *Dig. Dis. Sci.* *60*, 3062–3068.

SESSIONE “PREMIO H.M. GOLDMAN 2018”

Rimini, 15 marzo 2018

XX CONGRESSO NAZIONALE SidP

Thaulow, E., Erikssen, J., Sandvik, L., Stormorken, H., and Cohn, P.F. (1991). Blood platelet count and function are related to total and cardiovascular death in apparently healthy men. *Circulation* 84, 613–617.

Tonetti, M. S. & Claffey, N. (2005). Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. Group C consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology* 32(Suppl. 6), 210–213.

Tonetti, M.S., Van Dyke, T.E., and Working group 1 of the joint EFP/AAP workshop (2013). Periodontitis and atherosclerotic cardiovascular disease: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J. Clin. Periodontol.* 40 Suppl 14, S24-29.

Tran, D. T., Gay, I., Du, X. L., Fu, Y., Bebermeyer, R. D., Neumann, A. S., Streckfus, C., Chan, W. & Walji, M. F. (2014). Assessment of partial-mouth periodontal examination protocols for periodontitis surveillance. *Journal of Clinical Periodontology* 41, 846–852.

Vandenbroucke, J. P., von Elm, E., Altman, D. G., Gotzsche, P. C., Mulrow, C. D., Pocock, S. J., Poole, C., Schlesselman, J. J. & Egger, M. (2007). Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology (STROBE): explanation and elaboration. *Epidemiology* 18, 805–835.

Vinholt, P.J., Hvas, A.M., Frederiksen, H., Bathum, L., Jørgensen, M.K., and Nybo, M. (2016). Platelet count is associated with cardiovascular disease, cancer and mortality: A population-based cohort study. *Thromb. Res.* 148, 136–142.

Vizioli, L., Muscari, S., and Muscari, A. (2009). The relationship of mean platelet volume with the risk and prognosis of cardiovascular diseases. *Int. J. Clin. Pract.* 63, 1509–1515.

von Elm, E., Altman, D. G., Egger, M., Pocock, S. J., Gotzsche, P. C. & Vandenbroucke, J. P. (2007) The strengthening the reporting of observational studies in epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *Lancet* 370, 1453–1457.

Wang, X., Meng, H., Xu, L., Chen, Z., Shi, D., and Lv, D. (2015). Mean platelet volume as an inflammatory marker in patients with severe periodontitis. *Platelets* 26, 67–71.

World Health Organization (1997). *Oral Health Surveys – Basic Methods*, 4th edition, pp. 36– 38. Geneva: World Health Organization.

Zareifar, S., Farahmand Far, M.R., Golfeshan, F., and Cohan, N. (2014). Changes in platelet count and mean platelet volume during infectious and inflammatory disease and their correlation with ESR and CRP. *J. Clin. Lab. Anal.* 28, 245–248.

Zhan, Y., Lu, R., Meng, H., Wang, X., and Hou, J. (2016). Platelet activation and platelet-leukocyte interaction in generalized aggressive periodontitis. *J. Leukoc. Biol.* 100, 1155–1166.