

UN NUOVO PROTOCOLLO PER PRP AUTOLOGO

Raffaello Pagni, Enrico C. Vannucci, Maurizio Colafranceschi*

IRCCS Ospedale San Raffaele Milano, Reparto di Chirurgia Orale Avanzata, Responsabile professor E. Gherlone *Università degli Studi di Firenze, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Dipartimento di Anatomia Patologia

RIASSUNTO: Il plasma ricco di piastrine (PRP) è alla base di metodiche per incrementare la concentrazione dei fattori di crescita contenuti all'interno delle piastrine nelle sedi chirurgiche dove occorra accelerare i meccanismi della rigenerazione tissutale. La tecnica ambulatoriale semplice e poco costosa denominata protocollo Pagni-Vannucci (PV) consente, mediante il prelievo di una modica quantità di sangue venoso (da 15 a 35 ml nella comune casistica chirurgica ambulatoriale, e fino a 65 ml, nel caso di più complessi interventi di chirurgia orale avanzata), di ottenere un PRP autologo, anche nella procedura di attivazione, caratterizzato da una concentrazione piastrinica aumentata di circa 3,7 volte rispetto allo stato basale. Il PRP, impiegato da solo o in associazione a particolato di osso autologo a seconda delle indicazioni, è ottenuto mediante una tecnica di doppia centrifugazione, caratterizzata dalla diminuzione dei fattori stressanti le piastrine in ragione della brevità del tempo di centrifugazione e del basso livello di giri applicati. Sono presentati cinque casi esemplificativi di situazioni cliniche ambulatoriali di indicazione all'uso del PRP per rigenerazione ossea, che confermano anche istologicamente gli ottimi risultati già ottenuti da Marx in ambiente ospedaliero con PRP di simile concentrazione (3,4), derivante però da un prelievo ematico di 450 ml.

PAROLE CHIAVE: fattori di crescita, osteogenesi, plasma ricco di piastrine (PRP), rigenerazione ossea

SUMMARY: A New Protocol for Autologous PRP Platelet rich plasma (PRP) is employed in oral and maxillo-facial surgery to enhance the local concentration of growth factors released by platelets in the surgical sites where increased and more rapid bone regeneration rate is required. The Pagni-Vannucci (PV) protocol, a simple, rapid, and low-cost office procedure, provides a wholly autologous PRP with a platelet concentration 3.7 times greater than the basal one. According to this method, a double "gentle" centrifugation, characterised by a short centrifugation time and a low rpm level to preserve platelet quality, is applied to a small quantity of peripheral venous blood (15-35 ml, in common oral surgery, up to 65 ml, in advanced oral surgery) drawn from the patient. Five clinical cases are presented, exemplificative of some clinical indications to PRP use for new bone formation where PRP is used alone or associated to autologous bone chips. Our favourable results correspond both clinically and histologically to those obtained by Marx with a similar PRP concentration (3.4), although his procedure requires patient hospitalisation, and a drawing of 450 ml of peripheral venous blood.

KEY WORDS: bone regeneration, growth factors, osteogenesis, platelet rich plasma (PRP)

li studi nell'ambito della biologia cellulare hanno recentemente evidenziato la presenza, all'interno degli alfa-granuli endopiastrinici, di notevoli quantità di fattori di crescita.

PDGF (Platelet derived growth factor), TGF- β (Transforming growth factor- β), IGF (Insulin like growth factor), VEGF (Vascular endothelial growth factor), EGF (Epidermal growth factor) e altri fattori ematici sono i protagonisti dei pro-

cessi di rigenerazione tissutale¹⁻⁹. Il razionale del loro uso clinico è l'assunto che l'aumento in situ della loro concentrazione favorisca l'accelerazione dei meccanismi fisiologici di rigenerazione tissutale, in particolare ossea.

Di conseguenza, il PRP è alla base di metodiche di semplice esecuzione per incrementare la concentrazione di queste molecole nelle sedi chirurgiche ove ciò occorra. Risale agli anni Settanta l'uso di fibrina liofilizzata, di banca (*Tissucol*) o autologa, in particolare nella chirurgia ortopedica dove risultava utile negli innesti per l'effetto di conglobamento del tessuto osseo particolato e per una migliore neoosteogenesi, allora attribuita a un generico effetto osteoconducente della fibrina.

Anche Tayapongsak et al. 10, che per primi adottarono la fibrina autolo-

r.com

ga in chirurgia maxillo-faciale (1994), aderirono a tale spiegazione. Nel 1995, Slater et al. ⁹ rilevarono che l'aggiunta di piastrine a una coltura di osteoblasti in vitro ne accelerava lo sviluppo.

Nell'ambito della chirurgia orale e maxillo-facciale la tecnica del PRP è stata oggetto di numerose pubblicazioni 10-25.

Marx et al.¹², nel 1998, posero a confronto, in 88 casi di resezione mandibolare di 5 cm, gli esiti rigenerativi e maturativi ottenuti innestando osso macinato prelevato dalla cresta iliaca rispetto a quelli derivanti dall'innesto di osso addizionato di PRP (concentrato di 3,38 volte rispetto alla concentrazione basale).

Nei 44 casi che avevano ricevuto innesto di osso addizionato con PRP, l'autore rilevava una più rapida rigenerazione e maturazione ossea e, di conseguenza, una migliore qualità a 6 mesi (osso di fase II, lamellare), con maggiore quantità di trabecole ossee e maggiore densità del tessuto osseo rigenerato.

I dati risultanti sono stati analizzati con diverse metodiche:

□ l'esame istologico istomorfometrico dei prelievi effettuati a 6 mesi, evidenziante un'estensione della trabecolatura ossea del 74 ± 11% per l'osso innestato addizionato con PRP a fronte del 55,1 ± 8% nei campioni con innesti di solo osso (l'estensione dell'osso nativo era del 38,9 ± 6%); □ l'immunocitochimica con anticorpi monoclonali per i fattori di crescita PDGF e TGF-β, confermante la loro presenza nelle piastrine del PRP e in numerose cellule del tessuto osseo prelevato per l'innesto; □ il confronto delle immagini ra-

diografiche su ortopantomografie a 4-6 mesi, indicante un incremento di densità di 2,16 volte a 2 mesi e di 1,62 volte a 6 mesi nel gruppo con PRP rispetto all'altro.

Nel 1999, Anitua rende nota una tecnica a ciclo aperto di centrifugazione singola, inizialmente adottante un protocollo caratterizzato da 160 g per 6 minuti¹³, successivamente modificato in 270 g per 7 minuti²², per la preparazione in ambiente ambulatoriale di un PRGF (Plasma rich of growth factor), con concentrazione piastrinica 2-3 volte maggiore rispetto alla concentrazione basale²². Per l'attivazione del PRGF l'autore suggerisce l'uso di cloruro di calcio, con un'attesa di 15-20 minuti, con la possibilità di accelerare il processo di gelificazione associando osso autologo o altro biomateriale o con esposizione a 37 °C, realizzando un tempo di gelificazione di 5-10 minuti²².

Nel 2000, Sacchi et al. 19 pubblicano una tecnica di doppia centrifugazione (rispettivamente a 180 rpm e 580 rpm per la durata di 20 minuti ciascuna, senza specificare i g), a ciclo aperto e a uso ambulatoriale, comportante un arricchimento del PRP di 3,57 volte rispetto alla piastrinemia basale, successivamente da attivare con cloruro di calcio e Botropase. Varianti sono state proposte per incrementare le qualità adesive del prodotto finale^{17,20}, e l'industria ha reso attualmente disponibili attrezzature a uso odontoiatrico per l'espletamento della procedura a ciclo chiuso²⁵.

Il protocollo Pagni-Vannucchi (PV) si caratterizza per la realizzazione di un PRP autologo conforme o ancor più ricco di piastrine rispetto a

quello della tecnica di Marx, ottenuto ambulatorialmente a ciclo aperto con una centrifuga da laboratorio a controllo digitale dotata di software specificamente dedicato. Il PRP così ottenuto può essere impiegato da solo o meglio se in associazione con osso autologo.

Varianti al protocollo PV possono prevedere l'uso del PRP in associazione ad altri biomateriali.

Il tempo di centrifugazione e l'entità della forza gravitazionale (g) applicata sono elementi critici nella preparazione del PRP²⁶, come anche il tempo di conservazione²⁷.

Il protocollo PV risponde pertanto alla richiesta di:

- ☐ permettere la preparazione del PRP nell'ambulatorio odontoiatrico con una tecnica semplice e veloce per evitare alle piastrine i possibili danni da manipolazione e conservazione;
- □ prelevare una modica quantità di sangue venoso (da 15 a 35 ml nella consueta prassi chirurgica ambulatoriale, fino a 65 ml nel caso di interventi più complessi);
- ☐ rendere meno aggressiva la doppia centrifugazione grazie alla riduzione dei tempi e dei g applicati;
- □ usufruire di apparecchiature economiche e di kit monouso a basso costo;
- □ attivare il processo di gelificazione del concentrato piastrinico con CaCl₂ e trombina autologa, senza l'uso di materiali xenogenici (come trombina bovina o Botropase);
- □ ottenere un PRP con incremento di concentrazione piastrinica (374%) simile a quello ottenuto da Marx (338%) in ambiente ospedaliero;
- □ ottenere incrementi di concentrazione finali di PRP autologo di-

versi in funzione della diluizione impiegata (modulabilità del protocollo PV).

L'applicazione del PRP in corso di intervento di chirurgia orale è perfettamente assimilabile alle consuete procedure di innesto per autotrapianto di tessuto osseo o epitelioconnettivale con prelievo intraorale, nelle quali i tessuti da innestare, depositati per alcuni minuti in capsule di Petri sterili prima della loro applicazione nel sito chirurgico ricevente, derivano da un ambiente orale sicuramente non sterile.

L'integrale autologicità dei componenti biologici del protocollo PV, derivati dal donatore stesso, esclude ogni potenziale rischio legato all'uso di materiali eterologhi o xenogenici, spesso usati in ambito odontoiatrico nelle altre tecniche di rigenerazione ossea, e in altri protocolli di preparazione PRP¹²⁻¹⁹.

Le argomentazioni medico-legali sull'applicabilità in ambiente ambulatoriale odontoiatrico delle procedure implicanti l'uso di PRP autologo da parte dei medici e degli odontoiatri sono state prese in esame in pubblicazioni a ciò specificamente dedicate²⁸⁻³⁰ che concludono a favore di tale utilizzo.

PROTOCOLLO PV

La procedura consente, qualora si parta da un prelievo di sangue venoso periferico di 25 ml, come si verifica nella maggior parte delle situazioni ambulatoriali, di ottenere 4 ml di gel di PRP concentrato mediamente 3,7 volte rispetto alla piastrinemia basale, in rapporto di 1:5 con il volume del sangue prelevato

destinato alla preparazione del gel (20 ml), oltre a circa 5 ml di plasma povero di piastrine (PPP); gli altri 5 ml del prelievo sono destinati alla preparazione della trombina autologa. La procedura inizia con il prelievo ematico di 4 vacutainer da 5 ml (codice internazionale Tappo Azzurro), ciascuno contenente 0,5 ml di sodio citrato 0,129 M come complessante del calcio, e di un vacutainer da 5 ml (codice internazionale Tappo Rosso), vuoto (secco), identificato come T, per la preparazione della trombina autologa. I 4 vacutainer con Tappo Azzurro vengono sottoposti a una prima centrifugazione a 265 g per 7 minuti, in seguito alla quale si separano due fasi di plasma differentemente corpuscolate:

☐ la superiore, contenente circa l'80% delle piastrine originariamente presenti nel prelievo, unitamente ai globuli bianchi;

☐ l'inferiore, contenente in prevalenza i globuli rossi.

Si procede quindi al recupero di tutta la fase superiore (integrata da 0,3 mm superficiali di quella inferiore, contenente le piastrine di maggior volume) e a trasferirla in un vacutainer sterile vuoto a Tappo Rosso, al fine di ottenere in totale due vacutainer a Tappo Rosso contenenti il plasma recuperato dai 4 vacutainer a Tappo Azzurro. I due vacutainer a Tappo Rosso sono sottoposti a una seconda centrifugazione (1279 g per 7 minuti), al termine della quale si ottiene un PPP supernatante e, sul fondo, un concentrato piastrinico (CP).

Dopo aver collocato i due vacutainer a Tappo Rosso in un apposito dosatore-scala, si procede al prelievo del PPP da ciascuno di essi (avendo cura di lasciarne 2 ml al di sopra del CP) e al suo trasferimento in una capsula di Petri sterile, ottenendo circa 5 ml di PPP allo stato liquido utilizzabili, dopo attivazione, per la preparazione di una membrana di fibrina.

Si effettua quindi, in ciascuno dei due vacutainer, la risospensione del CP nei 2 ml di PPP residuo, ottenendo in tal modo il PRP allo stato liquido.

Al momento dell'utilizzo clinico si procederà alla ricalcificazione mediante 50 µl di soluzione commerciale di cloruro di calcio (1,360 N) per ml di PRP, e contestuale attivazione con trombina autologa (stesso dosaggio) per conseguire, nell'arco di tempo di 3 minuti circa, la gelificazione del PRP (4 ml) pronto per l'uso, sia puro sia mescolato a osso autologo (prima del processo di gelificazione).

La stessa procedura, con lo stesso dosaggio, è impiegata per la gelificazione del PPP che andrà sempre impiegato puro.

La trombina autologa (più precisamente il siero contenente trombina autologa e altri fattori della coagulazione) è ottenuta sottoponendo alla sola seconda centrifugazione il vacutainer a Tappo Rosso denominato T.

La spremitura, operata dalla centrifugazione, del coagulo condensato nella parte bassa del vacutainer separa, infatti, nella parte alta, una quantità di siero contenente trombina autologa e fattori coagulanti. Per volumi di PRP diversi (superiori o inferiori) si procede variando in proporzione le quantità sopraindicate, mantenendo costanti i 5 ml



1 Radiografia endorale di lesione cistica periapicale



2 Radiografia endorale 3 mesi dopo il riempimento con PRP ottenuto con tecnica di monocentrifugazione



3 Carota istologica nel sito post-estrattivo rigenerato nella fase del tentato inserimento di un impianto. Il prelievo risulta costituito da circa il 40% di tessuto osseo (cortesia del professor Adriano Piattelli, CLOPD, Università degli Studi di Chieti)



4 Rientro chirurgico, 3 mesi dopo il riempimento con PRP secondo protocollo PV dell'alveolo chirurgico già sede del carotaggio della figura precedente

ematici per la preparazione della trombina.

I brevi passaggi a ciclo aperto, da vacutainer a vacutainer o da vacutainer a capsula di Petri sterile, sono effettuati con siringhe e aghi sterili monouso, preferibilmente sotto cappa a flusso laminare.

Ogni componente della procedura è quindi monouso o risterilizzabile.

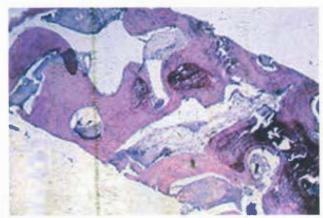
CASI CLINICI

PRIMO CASO

Riempimento di sito post-estrattivo (lesione a 5 pareti) con PRP da monocentrifugazione. Rientro a 3 mesi per tentativo di inserimento di impianto, non andato a buon fine per problemi tecnici, e nuovo riempimento con PRP secondo protocollo PV dell'alveolo chirurgico residuo. Successivo rientro a 3 mesi per posizionamento di impianto.

Paziente di sesso maschile, di 28 anni. Presenza di lesione cistica periradicolare su 1.5 (figura 1).

Si procede all'estrazione della radice e al riempimento del sito estrattivo con PRP da monocentrifugazione, al fine di ottenere la rigenerazione ossea utile per l'inserzione di un im-



5 Aspetto istologico del carotaggio relativo alla figura precedente. Il prelievo è costituito per circa il 70% da tessuto osseo maturo (cortesia del Dipartimento di Anatomia Patologica, Ospedale S. Raffaele, Milano)



6 Radiografia dell'impianto a 12 mesi dal carico protesico

pianto. Dopo 3 mesi, l'esame radiografico (figura 2) mostra la completa opacizzazione del sito post-estrattivo senza riassorbimenti a livello della cresta. Si decide di rientrare chirurgicamente per inserire un impianto eseguendo carotatura nel sito del futuro alveolo implantare: l'esame istologico mostra una discreta quantità (circa 40%) di osso neoformato in avanzato livello di maturazione (figura 3).

Poiché in fase di creazione dell'alveolo implantare viene perforata la membrana di Schneider, si propone al paziente di non procedere all'inserimento immediato dell'impianto e, effettuando inserimento di PRP secondo il protocollo PV, di attendere la guarigione della ferita ai fini della rigenerazione ossea e per il ripristino della continuità della membrana di Schneider. Alla riapertura a 3 mesi, la situazione esterna è assimilabile a quella del primo rientro (figura 4).

Al momento dell'inserimento dell'impianto viene eseguita la carotatura che, all'esame istologico, mostra una percentuale di osso neoformato lamellare maturo in quantità nettamente superiore rispetto alla precedente (circa 65-70% vs 40%)(figura 5). La radiografia dell'impianto protesizzato a 12 mesi dal carico effettuato 3 mesi dopo l'applicazione dell'impianto documenta la densità ottimale dell'osso rigenerato (figura 6).

SECONDO CASO

Allargamento di cresta sottile (lesione a 4 pareti) con uso di particolato osseo autologo addizionato di PRP, secondo protocollo PV.

Poiché il paziente, un uomo di 47 anni, lamentava il frequente svitamento della protesi in sede 1.5 per assenza di conformazione antirotazionale della testa implantare e inserzione eccessivamente vestibolare dell'impianto di sostegno, si rendeva necessaria l'estrazione dell'impianto, dopo la quale residuava soltanto una sottile lamina di osso corticale palatale (figura 7).

Si procede pertanto all'innesto di PRP addizionato di particolato osseo autologo prelevato dal tuber, con utilizzo di PPP come membrana (figura 8); previo rilasciamento del lembo vestibolare, al fine di ottenere una guarigione per prima intenzione e non disperdere l'innesto particolato/PRP, si applicano le suture. A 4 mesi si procede alla riapertura con carotatura per effettuare esame istologico e applicare l'impianto in sede corretta (figura 9). All'esame istologico si evidenzia osso trabecolare lamellare maturo per

so trabecolare lamellare maturo per una copertura della superficie di sezione di circa il 70% (figura 10).
Al quarto mese dall'applicazione dell'impianto si consegna la protesi

dell'impianto si consegna la protesi (figura 11) e, dopo ulteriori 12 mesi, la radiografia di controllo (figura 12) documenta un impianto radiologicamente sano.

TERZO CASO

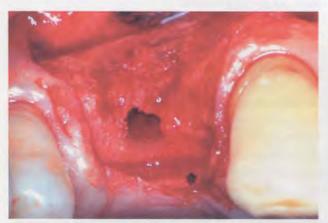
Allargamento di cresta sottile (lesione a 5 e, coronalmente, a 4 pareti) con uso di particolato di osso autologo addizionato



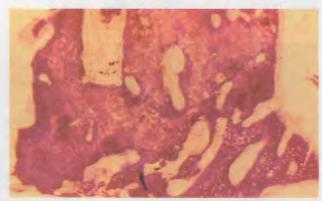
7 Dopo la rimozione di un impianto malposizionato si osserva la totale perdita della corticale vestibolare



8 Riempimento della cavità con gel di PRP e particolato osseo, coperto da PPP con funzione di membrana



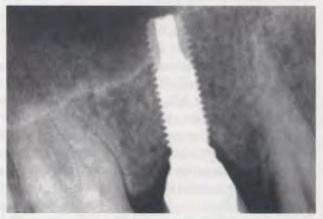
9 Alveolo chirurgico nella sede della cresta ossea rigenerata a 4 mesi



10 Aspetto istologico a piccolo ingrandimento della carotatura eseguita a 4 mesi, evidenziante osso trabecolare lamellare maturo per una copertura di circa il 70% della superficie della sezione istologica (cortesia del professor Adriano Piattelli, CLOPD, Università degli Studi di Chieti)



11 Protesi applicata 4 mesi dopo l'inserzione dell'impianto



12 Radiografia a 12 mesi dal carico protesico, mostrante l'integrità dell'osso in sede perimplantare



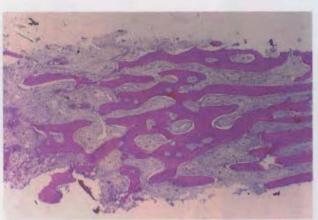
13 A 2 mesi dall'estrazione per parodontopatia dell'elemento 4.5 residua un ampio difetto osseo



14 Radiografia eseguita a distanza di 3 mesi, prima della rimozione della membrana e della carotatura per l'esame istologico e l'inserimento dell'impianto



15 Sella rigenerata dopo la rimozione della membrana



16 Il tessuto osseo neoformato, lamellare e a configurazione trabecolare, appare vitale e maturo su uno sfondo connettivale di tipo «mesenchimale», in assenza di infiltrato infiammatorio. L'estensione dell'osso neoformato raggiunge all'istomorfometria il 44-49% della superficie del preparato

con PRP, secondo protocollo PV, e uso di membrana non riassorbibile.

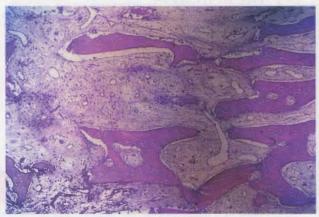
Paziente di sesso maschile, di 55 anni, richiedente rigenerazione di sella ossea distrutta da parodontopatia dell'elemento 4.5. All'apertura del lembo 2 mesi dopo l'estrazione dell'elemento dentale residua un ampio difetto osseo (figura 13) che richiede l'applicazione di particolato osseo autologo con PRP e il posiziona-

mento di una membrana non riassorbibile.

A distanza di 3 mesi, poiché la densità ossea all'esame radiologico appare adeguata (figura 14), si procede alla rimozione della membrana e alla carotatura per esame istologico e inserimento dell'impianto nella sede rigenerata e nella sella edentula distale (figura 15).

Il tessuto osseo neoformato appare di

tipo lamellare, costituito da trabecole ossee interdigitanti per il 44-49% della superficie di sezione secondo la valutazione istomorfometrica (figura 16); spicole residue del particolato osseo autologo innestato, in assenza di reazione infiammatoria, sono osservabili sullo sfondo connettivale lasso ricco di capillari ectasici e di cellule mesenchimali a differenziazione pre-osteoblastica/osteoblastica



17 A maggiore ingrandimento si distinguono, tra le trabecole neoformate, alcune spicole di osso autologo innestato, prive di osteociti al loro interno; sulla sinistra, un focus di cellule pre-osteoblastiche. Sono evidenti i vasi capillari ectasici



18 Radiografia a 12 mesi dall'applicazione della protesi: ottimale radiodensità della zona ossea rigenerata



19 Radiografia endorale pre-chirurgica in sede 2.6 evidenziante, sotto il pavimento del seno, uno spessore osseo insufficiente per l'inserimento di un impianto



20 Apertura dell'opercolo vestibolare

(figura 17). La radiografia immediatamente successiva all'inserzione degli impianti e quella a 12 mesi di distanza dall'applicazione della protesi (figura 18), consegnata 3 mesi dopo l'inserzione degli impianti, evidenziano la densità ottimale della zona ossea rigenerata.

OUARTO CASO

Rialzo di seno mascellare in due fasi con uso di particolato di osso autologo addizionato con PRP, secondo protocollo PV. Paziente di sesso maschile, di 30 anni. Lo studio radiologico effettuato con radiografia endorale digitale (figura 19) e Maxiscan evidenzia l'indicazione all'intervento di grande rialzo del seno mascellare sinistro in due fasi.

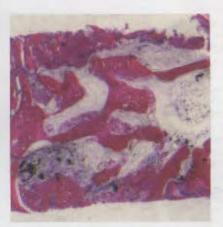
Nella prima fase è eseguito il rialzo del seno, procedendo, dopo l'apertura della finestra vestibolare (figura 20), all'innesto nella neocavità sinusale di particolato di osso autologo preleva-



21 Riempimento della neocavità con particolato di osso autologo addizionato di PRP



22 Radiografia eseguita a 130 giorni: si noti l'elevata radiodensità dell'osso neoformato



23 Il tessuto prelevato a 130 giorni appare costituito istologicamente, per circa il 45%, da tessuto osseo lamellare maturo (cortesia del professor Adriano Piattelli, CLOPD, Università degli Studi di Chieti)



24 Impianto inserito. Ossificazione dell'opercolo



25 Radiografia dell'impianto a 12 mesi dal carico protesico

to dal tuber e addizionato con PRP (figura 21). La maturazione ossea dell'innesto viene controllata con radiografie endorali. A 130 giorni dall'intervento, dopo controllo radiografico (figura 22), si esegue il rientro chirurgico per l'inserimento di un impianto. Nel corso della preparazione del sito implantare è eseguita carotatura per esame istologico, che mette in evidenza tessuto osseo neoformato lamellare maturo, distribuito per circa il 45% della superficie di sezione (figura 23). Sia radiologicamente sia macroscopicamente (figura 24) si evidenzia, a impianto inserito, la

completa maturazione rispettivamente dell'osso neoformato e dell'opercolo vestibolare osseo di accesso al seno. A 12 mesi di distanza dall'applicazione del carico protesico effettuato a 3 mesi dall'inserzione dell'impianto, la densità del tessuto osseo perimplantare appare ideale (figura 25).



26 Radiografia prima dell'estrazione dell'elemento 3.8 incluso



27 Dopo l'avulsione, si noti il difetto osseo, vestibolarmente e distalmente all'elemento 3.7



28 Radiografia post-intervento. Si notino i granuli ancora non riassorbiti



29 Rimozione delle suture a 6 giorni dall'applicazione del PRP. Buon livello di riepitelizzazione della ferita chirurgica

QUINTO CASO

Estrazione dell'elemento 3.8 incluso e riempimento con PRP, secondo protocollo PV e \(\beta\)-fosfato tricalcico, per eliminazione di tasca infraossea di 16 mm in sede distale e 14 mm in sede vestibolare in corrispondenza dell'elemento 3.7 (lesione a 5 pareti).

Il paziente si presenta con anamnesi di ascessi ripetuti in corrispondenza dell'elemento 3.8 incluso. Dopo copertura antibiotica, al momento dell'estrazione, si rileva un sondaggio di 16 mm distalmente e 14 mm vestibolarmente all'elemento 3.7, confermato dall'immagine radiografica (figura 26).

Aperto il lembo di accesso, si rimuove il 3.8 (figura 27) e, previa detersione con curette e ultrasuoni associati a lavaggi con clorexidina 0,2% delle superfici radicolari espo-

ste, una volta ricalcificato il PRP, lo si attiva e lo si mescola con β -fosfato tricalcico.

Dopo aver applicato il PRP nell'alveolo chirurgico, previo controllo radiografico (figura 28), si procede alla sutura.

Dopo 6 giorni la ferita mostra un buon livello di riepitelizzazione (figura 29).

A 5 mesi di distanza, il controllo ra-

diografico (figura 30) evidenzia la scarsa sondabilità con cono di guttaperca del solco gengivale di 3.7 e, nella sede del precedente alveolo chirurgico, un grado di densità ossea superiore a quello dell'osso circostante; nella stessa sede, il sondaggio con sonda millimetrata risulta di 4 mm sia distalmente sia vestibolarmente (figura 31).

CONCLUSIONI

L'azione facilitante la neo-osteogenesi del PRP si realizza attraverso l'incremento della concentrazione, in sede di intervento, dei fattori di crescita endopiastrinici e di altre proteine ematiche, grazie all'azione di incremento della chemiotassi delle cellule competenti coinvolte nei processi di neoangiogenesi, di stimolazione delle cellule mesenchimali, di proliferazione dei preosteoblasti e della loro differenziazione in osteoblasti, vale a dire dell'insieme del meccanismo fisiologico della rigenerazione tissutale.

La più veloce maturazione e la maggiore quantità di tessuto osseo rigenerato, nonché la migliore riepitelizzazione della ferita, sono i punti qualificanti le tecniche che utilizzano il PRP.

Il gel di PRP, in quanto autologo, è privo di caratteristiche di tossicità e immunogenicità anche qualora, scarseggiando l'osso autologo, lo si voglia integrare con materiali alloplastici, caratterizzati peraltro da proprietà solo osteoconduttive. Il protocollo PV consente velocemente, con un esiguo prelievo di sangue venoso periferico, in condizioni di sterilità adeguate alla sala



30 Radiografia di controllo a 5 mesi: si evidenziano la scarsa sondabilità con cono di guttaperca del solco gengivale del dente 3.7 e un grado di densità ossea nella sede del precedente alveolo chirurgico superiore a quello dell'osso circostante



31 A 5 mesi il sondaggio di controllo mostra un'evidente riduzione delle tasche parodontali di 3.7 (4 mm, in sede sia vestibolare sia distale)

chirurgica odontoiatrica, con attrezzature semplici ed economiche, senza perdite di tempo e senza disagio aggiuntivo per il paziente, di ottenere in ambiente ambulatoriale validi risultati sia nella piccola chirurgia orale sia nella chirurgia orale avanzata.

I dati clinici e istomorfometrici, qui presentati sotto forma di selezione di casi clinici rappresentativi, coincidono infatti per qualità e quantità di osso neoformato, a parità di intervallo temporale, con i reperti di Marx¹² ottenuti con PRP di uguale concentrazione, ma realizzati in ambiente ospedaliero.

Il tessuto osseo neoformato, vitale e maturo, corrisponde nell'istomorfologia ai reperti conseguiti sui difetti di sella da Anitua^{13,21,22} con tecnica ambulatoriale di monocentrifugazione; anche se manca, nei contributi di Anitua citati, la quantificazione dell'osso neoformato, la quantità di osso rigenerato seguendo il protocollo PV sembra essere maggiore rispetto all'applicazione del protocollo di Anitua, come nel no-

stro primo caso, verosimilmente per la maggiore quantità di piastrine contenute nel PRP-PV. Nel rialzo del seno²² le situazioni non sono invece confrontabili, perché Anitua riapre a 10 mesi, dopo aver associato *BioOss* e il 10% di osso autologo al PRGF, mentre, secondo il protocollo PV (PRP con osso autologo), l'applicazione degli impianti nei rialzi di seno avviene di routine più precocemente, cioè al quarto mese, oppure al terzo-secondo mese, se sussistono situazioni favorevoli (età non avanzata del paziente).

Quanto alla documentazione istologica fornita da Kassolis et al. 16, essa si riferisce a pazienti trattati con PRP ottenuto da plasmaferesi addizionato con osso di banca (freezedried bone, DFDB).

Risulta quindi avvalorata, nonostante una voce discorde verosimilmente attribuibile all'associazione del PRP con DFDB²⁴, l'utilità clinica della tecnica del PRP in generale, e del protocollo PV in particolare.

La tecnica trova le sue indicazioni in situazioni pre- e perimplantari richiedenti allargamento e/o innalzamento delle selle ossee (classi 4 e 5 di Cawood e Howell), nel piccolo e nel grande rialzo del seno, nell'applicazione di impianti nei distretti mascellari posteriori, sovente caratterizzati da osso di qualità D4, nel carico immediato e/o precoce, dopo escissione di cisti mascellari ed estrazione chirurgica di elementi inclusi, per integrazione del trattamento della perimplantite, nella rigenerazione ossea guidata (GBR) per un accorciamento dei tempi di riapertura.

I risultati ottimali sono ottenuti nei difetti a 5 pareti, cioè dopo estrazione chirurgica di elementi dentali ed escissione di cisti mascellari. Nei difetti a 3 pareti, e in particolare nel grande rialzo del seno ove l'osso deve essere generato ex novo piuttosto che rigenerato, saranno da attendersi risultati meno evidenti in assoluto, ma l'indicazione all'uso del PRP con osso autologo ne risulta rafforzata (quarto caso).

L'abbinamento del PRP con l'osso autologo di derivazione intra- o extra-

orale realizza i migliori risultati perché abbina alla funzione osteoconduttiva dell'osso innestato (posseduta anche dagli altri riempitivi eterologhi e alloplastici) la più rilevante funzione osteoinduttiva, in ragione della liberazione delle proteine morfogenetiche dalla matrice ossea riassorbita.

In definitiva, le proprietà osteogenetiche del PRP influenzerebbero la fase iniziale, angiogenetica, del processo di osteogenesi, il cui ulteriore sviluppo sarebbe potenziato dai fattori di crescita liberati dalla matrice ossea attraverso il progressivo riassorbimento dell'osso innestato.

Poiché l'osso neoformato si rimodella in funzione del carico, è inoltre fondamentale che questo processo non sia intralciato dalla persistenza di materiali, alloplastici o eterologhi, a lento o assente riassorbimento in sede d'innesto, poiché essi interferirebbero nella fase di rimodellamento sulla corretta distribuzione delle linee di carico. Anche nella riparazione dei difetti parodontali e nella rigenerazione tissutale guidata (GTR), dove peraltro va sottolineato come a tutt'oggi la letteratura non sia né abbondante né univoca, l'uso del PRP trova un campo di applicazione.

Ovviamente, sono necessari studi più ampi, per numero e longitudinalità, ma i riscontri iniziali sono confortanti e i presupposti teorici appaiono razionali.

Si ritiene di poter affermare che l'applicazione del PRP autologo nella chirurgia ambulatoriale odontoiatrica è uno strumento integrativo facile e veloce, assai valido nelle tecniche di rigenerazione ossea.

Corrispondenza Raffaello Pagni via Lamarmora 29, 50121 Firenze e-mail: raffaello.pagni1@tin.it

BIBLIOGRAFIA

- 1. Assoian RK, Komoriya A, Meyers CA, Miller DM, Sporn MB. Transforming growth factor-beta in human platelets. Identification of a major storage site, purification and characterization. J Biol Chem 1983;258:7155-60.

 2. Ross R. Raines EW Bowen-Pone DE The
- 2. Ross R, Raines EW, Bowen-Pope DF.The biology of platelet-derived growth factor. Cell 1986;46:155-69.
- 3. Centrella M, Massague J, Canalis E. Human platelet-derived transforming growth factor-beta stimulates parameters of bone growth in fetal rat calvariae. Endocrinology 1986;119: 2306-12.
- 4. Ross R. Platelet-derived growth factor. Annu Rev Med 1987;38:71-9.
- 5. Canalis E, Varghese S, McCarthy TL, Centrella M. Role of platelet derived growth factore in bone cell function. Growth Regul 1992;2:151-5.
- 6. Pierce GF, Vande Berg J, Rudolf R, Tarpley J, Mustoe TA. Platelet-derived growth factor-BB and transforming growth factor beta 1 selectively modulate glycosaminoglycans, collagen, and myofibroblasts in excisional wounds. Am J Pathol 1991;138:629-46.
- 7. Hartman AR, Galanakis DK, Honig MP, Seifert FC, Anagnostopoulos CA. Autologous whole plasma fibrin gel. Intraoperative procurement. Arch Surg 1992;127:357-9.
- 8. Ledent E, Wasteson A, Berlin G. Growth factor release during preparation and storage of platelet concentrates. Vox Sang 1995;68: 205-9.
- 9. Slater M, Patava J, Kingham K, Mason RS. Involvement of platelets in stimulating osteogenic activity. J Orthop Res 1995;13:655-63. 10. Tayapongsak P, O'Brien DA, Monteiro CB, Arceo-Diaz LY. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. J Oral Maxillofac Surg 1994;52:161-6.
- 11. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. J Oral Maxillofac Surg 1997;55: 1294-9.

- 12. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma. Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998;85: 638-46.
- 13. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. Int J Oral Maxillofac Implants 1999;14:529-35.
- 14. Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. Tissue engineering. Applications in maxillofacial surgery and periodontics. Carol Stream (Ill, UsA): Quintessence Publishing Co Inc, 1999. 15. Carlson ER. Bone grafting the jaws in the 21st century: the use of platelet-rich plasma and bone morphogenetic protein. Alpha Omegan 2000;93:26–30.
- 16. Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. J Periodont 2000;71:1654-61.
- 17. Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. J Oral Maxillofac Surg 2000; 58:297–300.
- 18. Obarrio JJ, Arauz-Dutari JI, Chamberlain TM, Croston A. The use of autologous growth factors in periodontal surgical therapy: platelet gel biotechnology case reports. Int J Periodont Rest Dent 2000;20: 486-97.
- 19. Sacchi MC, Bellanda M, Vercellotti T. Il concentrato piastrinico in chirurgia orale e implantare. Dent Mod 2000;1:69-78.
- 20. Sonnleitner D, Huemer P, Sullivan DY. A simplified technique for producing plateletrich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques: a technical note. Int J Oral Maxillofac Impl 2000;15: 879–82.
- 21. Anitua E. The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. Pract Proced Aesthet Dent 2001;13:487-93.
- 22. Anitua E, Bozzi L. Gel di plasma ricco di piastrine. Implantologia Orale 2001;3: 9-24. 23. Lozada JL, Caplanis N, Proussaefs P, Wil-
- lardsen J, Kammeyer G. Platelet rich plasma application in sinus graft surgery. Part I: background and processing techniques. J Oral Implantol 2001;7:38–42.
- 24. Shanaman R, Filstein MR, Danesh-Meyer MJ. Localized ridge augmentation