



Giulio Rasperini

Enrico Limioli
Raffaele Acunzo
Stefano Milani
Luca Francetti
Gionata Bellucci

La rigenerazione parodontale: materiali e tecniche

L'American Academy of Periodontology ha definito come chirurgia parodontale rigenerativa l'insieme di tutte quelle metodiche finalizzate al ripristino morfologico e funzionale dei tessuti di supporto del dente lesi dalla malattia parodontale¹. Per tessuti di supporto si intendono: cemento radicolare, legamento parodontale e osso alveolare propriamente detto. In passato metodiche come lo scaling and root planing o il lembo di Widman modificato venivano erroneamente definite come «tecniche rigenerative»². In realtà queste procedure determinano una riduzione del sondaggio parodontale a scapito di un aumento della recessione gengivale e con una guarigione istologica caratterizzata dalla presenza di epitelio giunzionale lungo. Una condizione simile è da definirsi più propriamente come riparazione e non rigenerazione. Agli inizi degli anni 80 cominciò a divenire

evidente la necessità di sviluppare procedure chirurgiche che potessero garantire la corretta *restitutio ad integrum* dei tessuti parodontali lesi. L'elaborazione di disegni di lembo concepiti in maniera specifica per la rigenerazione parodontale rappresenta uno dei cambiamenti di maggior rilievo: la preservazione del tessuto molle a livello interdentale e il corretto riposizionamento coronale del lembo hanno reso predicibile la guarigione per prima intenzione del sito operatorio e la stabilizzazione adeguata dei biomateriali^{3,4}. Una più corretta gestione dei tessuti molli e l'attenta preservazione del tessuto interdentale hanno inoltre ridotto sensibilmente la prevalenza dell'esposizione delle membrane non riassorbibili, considerata come la principale complicanza delle procedure rigenerative parodontali con prevalenza compresa tra il 50% e il 100%⁵⁻⁹. L'introduzione delle membrane riassorbibili ha rappresentato poi un ulteriore passo avanti

Riassunto

L'obiettivo della terapia rigenerativa parodontale è quello di rigenerare i tessuti di supporto dell'elemento dentario lesi a causa della malattia parodontale. La comprensione dei principi biologici legati alla rigenerazione tissutale ha permesso lo sviluppo e l'introduzione di tecniche chirurgiche sempre più raffinate e minimamente invasive, finalizzate al ripristino funzionale ed estetico del sito chirurgico. La sinergia tra tecnica chirurgica e biomateriali e la loro attenta scelta, e un rigoroso mantenimento sono alla base del successo delle terapie rigenerative.

● **PAROLE CHIAVE:** *rigenerazione parodontale, difetti infraossei, malattia parodontale, fattori di crescita.*

PERIODONTAL REGENERATION: MATERIALS AND TECHNIQUES

The American Academy of Periodontology defines as periodontal regenerative therapy the collection of methods aimed to completely restore, morphologically and functionally, the tooth supporting tissue lost after periodontal disease¹. Tooth supporting tissue are root cementum, periodontal ligament and proper alveolar bone. In the past methods as scaling & root planing or Widman Modified Flap were wrongly considered as "regenerative techniques"². Indeed these techniques induce periodontal probing reduction with increasing gingival recession, histologically characterized by long junctional epithelium. This condition must be defined as repairing instead of

regeneration. At the beginning of the 80's the scientific community started to research methods to completely restore injured periodontal tissues. The ideation of specifically designed flap for periodontal regeneration was one of the most important innovations: the preservation of interdental soft tissue and the correct coronal positioning of the flap after surgery brought to a better healing process of surgical wound and to the stabilization of the bio-materials placed^{3,4}. The improved managing of surgical flap also significantly reduced non-resorbable membrane exposition risks, that were considered as the main post operative complications in regenerative procedure (prevalence between 50% and 100%)⁵⁻⁹.

Summary

The aim of periodontal regenerative therapy is to recreate tooth supporting tissue lost after periodontal disease, obtaining a positive tooth prognosis. The better comprehension of biological principles involved in tissue regeneration led to development and introduction of minimally invasive surgical techniques, aimed to functionally and aesthetically restore the tooth. The main variables connected to regenerative therapy success are patients' selection and their lifestyle, synergy of surgical techniques and bio-materials and post surgical maintenance.

● **KEY WORDS:** *periodontal regeneration, intrabony defects, periodontal disease, growth factors.*

nel campo della rigenerazione parodontale, semplificando le procedure chirurgiche e la gestione delle complicanze postoperatorie. La sempre più accurata comprensione dei meccanismi biologici legati alla guarigione della ferita parodontale¹⁰ e l'importanza della stabilità del coagulo ematico¹¹ hanno dato l'impulso all'introduzione delle ultime metodiche mini-invasive che permettono di ottenere la rigenerazione del legamento parodontale sfruttando il più possibile le capacità rigenerative dell'organismo stesso¹²⁻¹⁶.

Principi biologici della rigenerazione guidata dei tessuti (GTR)

L'obiettivo della terapia rigenerativa parodontale è quello di rigenerare i tessuti di supporto dell'elemento dentario lesi a causa della malattia parodontale. Negli anni 70 numerosi Autori hanno investigato la possibilità di colmare difetti infraossei mediante l'utilizzo di innesti di osso autologo di derivazione intraorale o prelevato dalla cresta iliaca, oppure con osso di banca da donatore (DFDBA)¹⁷⁻¹⁹. Sebbene i risultati di sperimentazioni cliniche dimostrassero un certo grado di riempimento del difetto, rimaneva ancora irrisolta la problematica legata alla migrazione lungo la superficie radicolare delle cellule epiteliali

durante la fase di guarigione²⁰. Prichard nel 1957 aveva già osservato che, suturando il lembo apicalmente al difetto infosseo degranulato ma lasciato esposto, aveva una migliore guarigione rispetto a quando suturava il lembo sopra il difetto, per effetto dell'allontanamento delle cellule dell'epitelio gengivale. È stato Melcher nel 1976 a suggerire come la natura dell'attacco riformatosi sulla superficie radicolare dopo terapia chirurgica dipendesse strettamente dal tipo cellulare in grado di colonizzare il coagulo ematico²². Durante i processi di guarigione della ferita parodontale, le linee cellulari in grado di ripopolare potenzialmente la sede della lesione trattata sono rappresentate dalle cellule epiteliali, dalle cellule del tessuto connettivale gengivale, dalle cellule del tessuto osseo e del legamento parodontale. In condizioni normali le cellule epiteliali migrano in direzione apicale molto rapidamente lungo la superficie radicolare determinando una guarigione istologica del difetto mediante formazione di un epitelio giunzionale lungo e non di nuovo attacco parodontale, impedendo una completa «restitutio a integrum» dei tessuti parodontali¹⁷. Sulla base della teoria proposta da Melcher si sono sviluppate le procedure di rigenerazione dei tessuti parodontali, il

cui fondamento è legato all'utilizzo di una membrana-barriera finalizzata a ostacolare la colonizzazione della superficie radicolare da parte delle cellule epiteliali. Ellegard nel 1979 propose di riempire il difetto con osso autologo e di proteggerlo con un innesto epitelio-connettivale²¹. Nyman nei primi anni 80 introdusse l'utilizzo di una barriera fisica in acetato di cellulosa che consentisse alle cellule del legamento parodontale e agli osteoblasti di colonizzare il coagulo isolando ed escludendo selettivamente l'epitelio²³. Studi istologici hanno dimostrato l'efficacia di questa metodica nel consentire la rigenerazione di un nuovo apparato di attacco con fibre connettivali orientate funzionalmente e inserite nel cemento radicolare e nell'osso alveolare propriamente detto neoformato^{24,25}. La maggiore comprensione dei meccanismi biologici legati alla guarigione della ferita parodontale e alla rigenerazione dei tessuti di supporto ha consentito un'ulteriore evoluzione delle procedure di GTR. A partire dalla metà degli anni 90 Lars Heijl e collaboratori hanno presentato un nuovo principio biologico per ottenere la rigenerazione dei tessuti parodontali, non più guidandola fisicamente mediante l'utilizzo di una membrana ma inducendola chimicamente attraverso l'uso di un mediatore chimico bioattivo come le amelogenine²⁶.

The introduction of resorbable membranes represented an important step for regenerative techniques, simplifying surgical procedures and post operative complications managing. The even more accurate comprehension of biological principles of wound healing¹⁰ and the increasing importance given to blood clot stabilization¹¹ led to the introduction of new minimally invasive procedures which allow to obtain regeneration exploiting as much as possible the individual regenerative potentials¹²⁻¹⁶.

BIOLOGICAL PRINCIPLES OF GUIDED TISSUE PERIODONTAL REGENERATION (GTR)

In the 70's many authors investigated the possibility of filling intrabony defects using autologous bone or

homologous bone (DFDBA)¹⁷⁻¹⁹. Despite the positive results obtained in term of radiographic bone filling, the wound healing was described as a reparation process, with long junctional epithelium covering root surface²⁰. Already in 1957 Prichard observed that a surgical wound sutured apically to the bone defect provides better healing than a flap positioned over the defect, this was because the epithelial cell in the case of an apically closure are maintained far from the intrabony site. In 1976 Melcher was the first who described the reason of this healing process, he assessed that the first type of cells that colonize blood clot determine the type of tissue that will fill the defect²⁰. During periodontal healing process the main cell progenitor able to colonize

coagulum are epithelial cells, connective tissue cells and bone cells. In spontaneous healing the epithelial cells migrate fast along root surface in apical direction and determine a long junctional epithelium healing, histologically evaluated, without new periodontal attaching fiber formation¹⁷. Starting from Melcher's theory several surgical techniques, based on the use of a barrier membrane to avoid epithelial cells defect colonization, were developed. Ellegard in 1979 proposed to fill the bone defect with autogenous bone and to protect it with a connective tissue graft²¹. Nyman in the 80's used a cellulose acetate membrane (Millipore) to protect blood clot in order to consent periodontal and bone cells proliferation²³.

Fattori prognostici della GTR

Il successo della terapia parodontale rigenerativa è strettamente legato a una serie di fattori che possono essere correlati al paziente, al difetto che intendiamo trattare e al dente stesso.

Fattori prognostici correlati al paziente

Se da un lato la rigenerazione guidata dei tessuti parodontali è in grado di modificare la prognosi di un elemento dentario affetto da malattia parodontale, è altrettanto vero che risultati clinici ottimali e predicibili possono essere raggiunti solo dopo un'attenta analisi del paziente e una rigida selezione dei soggetti candidati a simili procedure chirurgiche.

L'outcome clinico delle procedure di GTR può essere sensibilmente influenzato da fattori di natura psicologica, ambientale, comportamentale e genetica legate al paziente.

Il soggetto candidato a una procedura parodontale rigenerativa deve aver ben compreso la necessità di raggiungere elevati standard di controllo microbiologico della placca batterica e di quei co-fattori legati a una riduzione del successo clinico della terapia rigenerativa, come l'abitudine al fumo.

Da questo punto di vista, è compito del clinico valutare durante il corso della terapia causale la possibilità di modificare abitudini scorrette del paziente attraverso interventi di educazione comportamentale, migliorandone gli stili di vita.

Un ulteriore fattore correlato all'insuccesso delle procedure di GTR è rappresentato dalla presenza di elevati livelli di infiammazione parodontale residua dopo completamento della terapia iniziale, valutabile clinicamente come la percentuale di siti con sanguinamento al sondaggio (BOP), o da un punto di vista microbiologico per la presenza di patogeni parodontali. È di fondamentale importanza posticipare qualsiasi procedura chirurgica rigenerativa fino a quando non è stato raggiunto un livello soddisfacente di controllo della malattia parodontale con la terapia non chirurgica.

In definitiva, esclusa l'eventuale presenza di controindicazioni assolute locali e/o sistemiche alla chirurgia parodontale rigenerativa, il clinico deve valutare il grado di compliance del paziente che deve essere particolarmente motivato a intraprendere un percorso terapeutico raffinato e allo stesso tempo complesso come quello legato ai protocolli di terapia rigenerativa.

Fattori prognostici correlati al difetto

La morfologia del difetto infraosseo che intendiamo trattare riveste senza dubbio un ruolo chiave nel processo di guarigione nell'ambito delle procedure di rigenerazione guidata dei tessuti. La morfologia dei difetti infraossei è solitamente definita sulla base dei seguenti parametri:

- profondità;
- ampiezza;
- numero di pareti ossee residue.

Studi clinici hanno dimostrato come maggiore è la profondità del difetto infraosseo alla baseline, maggiore è il guadagno in termini di CAL e di tessuto osseo al termine della terapia²⁷⁻²⁹. Difetti profondi più di 3 mm si associano a valori di guadagno di attacco clinico superiori a quelli inferiori ai 3 mm ($3,7 \pm 1,7$ mm contro i $2,2 \pm 1,3$ mm).

Tuttavia, è corretto sottolineare come il potenziale rigenerativo non sia correlato alla profondità del difetto: in termini percentuali le variazioni del livello di attacco clinico tra la baseline e il post-chirurgico sono sovrapponibili sia per difetti infraossei profondi ($76,7 \pm 27,7\%$) che per quelli poco profondi ($75,8 \pm 45\%$)³⁰.

Un altro parametro morfologico fondamentale è rappresentato dall'ampiezza

Different histological studies demonstrated the efficacy of this method, newly formed periodontal ligament was observed and it was characterized by new connective fiber oriented from the cementum to the alveolar bone^{24,25}. The better comprehension of biological principles related to wound healing process allowed to develop new surgical technique and bio-materials. Starting from the second half of the 90's Lars Heijl et al. presented a new regenerative principle, based on the use of special proteins (amelogenins) able to induce periodontal cell differentiation and consequent periodontal regeneration²⁶.

GTR: PROGNOSTIC FACTORS

The success of periodontal regenerative therapy is strictly

correlated to several variables, related to the patient, to the intrabony defect and to the tooth.

Patient related prognostic factor

Despite the fact that regenerative therapy itself is able to change a negative periodontal affected tooth prognosis in positive, the predictability of surgery results and the long term maintenance of the success achieved after surgery are affected by patient lifestyle and cooperation. Psychological, behavioral and genetic factor have a great impact on clinical outcomes. The patient that accepts a periodontal regenerative protocol must understand properly the importance of a correct domestic and professional oral hygiene and the negative impact of smoking. The

professional must evaluate patient collaboration and the possibility to modify wrong behavior in order to achieve better lifestyle. An high level of periodontal inflammation, evaluated with Full Mouth Plaque Score (FMPS), Full Mouth Bleeding Score (FMBS) and microbiological analysis has to be considered a negative prognostic indicator and surgical therapy must be avoided until the periodontal disease is under control. In case of a negative situation the dentist should try to re-motivate the patient and reevaluate him a second time, in order to decide for surgical approach or not. The periodontist should consider the periodontal regeneration therapy as a process involving patient behavior, and the surgical approach has to be considered as the final step of a motivational and educational plan.

della componente infraossea del difetto. La sua valutazione viene eseguita misurando l'angolo formatosi tra la retta tangente alla parete ossea del difetto e quella parallela all'asse maggiore del dente: questo parametro è noto come angolo radiografico. I dati presenti in letteratura suggeriscono un ridotto guadagno di attacco clinico e di riempimento osseo del difetto a distanza di 12 mesi in siti con un angolo radiografico ampio. Cortellini e Tonetti hanno osservato come difetti infraossei con angolo radiografico uguale o inferiore ai 25° presentassero valori di CAL post-terapia mediamente superiori di 1,5 mm rispetto a difetti con angolo radiografico uguale o superiore ai 37°³¹. L'ampiezza dell'angolo radiografico sembra influenzare l'outcome clinico anche nelle procedure di GTR associate all'utilizzo di EMD (*Enamel Matrix Derivative* protein)³², mentre Linares e collaboratori non hanno riscontrato alcuna associazione tra l'ampiezza della componente infraossea del difetto e il guadagno di CAL in siti trattati con approccio combinato (innesto osseo + membrana)³³. Questi dati suggeriscono la necessità di comprendere adeguatamente la morfologia del difetto in fase di programmazione al fine di selezionare la procedura chirurgica più adeguata e in grado di avviare, anche se solo parzialmente, alla caratteristiche

morfologiche negative del difetto stesso. Il terzo parametro morfologico per la valutazione dei difetti infraossei è costituito dal numero di pareti residue. La sua corretta valutazione passa attraverso l'integrazione delle informazioni derivanti dall'analisi clinica del difetto (sondaggio parodontale) con quelle rilevabili da radiografie endorali eseguite con la tecnica dei raggi paralleli. I difetti infraossei possono essere classificati a 1, 2 o 3 pareti. Tuttavia, nella realtà clinica non esistono difetti «puri». Molto spesso procedendo in direzione corono-apicale il numero di pareti ossee può variare: spesso la porzione più coronale del difetto è a una sola parete mentre quella più apicale è a due o tre pareti. Diversi studi clinici pubblicati hanno sostenuto l'esistenza di una correlazione tra il numero di pareti residue e il risultato clinico delle procedure rigenerative^{18,34}. Tuttavia per quanto riguarda la GTR, i dati presenti in letteratura sono discordanti. Alcuni Autori sostengono che il grado di guadagno di CAL corrisponde alla profondità della componente infraossea a tre pareti del difetto³⁵, mentre altri sostengono che la rigenerazione della porzione più coronale del difetto risulta essere incompleta indipendentemente dalla natura a uno, due o tre pareti del difetto^{28,29}. In definitiva, sebbene non esistano evidenze in merito

a una possibile correlazione tra numero di pareti ossee residue e livelli di guadagno di CAL, è di fondamentale importanza valutare quest'ultimo parametro morfologico al fine di selezionare una metodica chirurgica in grado di garantire una adeguata stabilità del coagulo in assenza di un difetto contenitivo.

Fattori prognostici correlati al dente

La rigenerazione guidata dei tessuti deve essere considerata come una terapia capace di cambiare la prognosi di un elemento dentale e che di conseguenza deve integrarsi nell'ambito di un piano di trattamento più ampio che riguarda tanto il singolo elemento quanto l'intero cavo orale, e non solo dal punto di vista parodontale. Cortellini e Tonetti, in uno studio pubblicato nel 2000 e condotto su 208 pazienti, hanno osservato come la corretta esecuzione della terapia endodontica non sembrasse influenzare la guarigione a breve e lungo termine di difetti infraossei trattati con membrane³⁶. Pertanto, il mantenimento della vitalità pulpale sembrerebbe non essere rilevante ai fini del successo della terapia rigenerativa. Tuttavia, una attenta analisi della prognosi endodontica dell'elemento da trattare mediante GTR deve essere effettuata in fase prechirurgica al fine di risolvere

Intrabony defect related prognostic factors

Intrabony defect's morphology plays a fundamental role in the healing process. The following parameters should be evaluated to analyze a periodontal bone defect:

- Depth
- Width
- Residual bone wall.

Clinical studies demonstrates that Clinical Attachment Level (CAL) gained after surgical procedures is statistically correlated with defect depth: to a deeper defect corresponds more CAL gain and bone regeneration after active therapy²⁷⁻²⁹. Defects deeper than 3 mm are associated to better value of CAL-gain than defects with depth inferior to 3 mm (3.7±1.7 mm versus 2.2±1.3 mm).

Anyway, it must be clarified that regenerative potential is not directly correlated to defect depth; in percentage the CAL gain achieved is the same in both kind of situations (76.7±27.7% versus 75.8±45%)³⁰. Another fundamental variable involved in regeneration prognosis is the width of the intrabony component of the periodontal lesion. This dimension can be evaluated with a radiographic angle comprised between a first line running parallel to root surface and a second one drawn along the bone wall of the defect. Literature data suggested that a wider value of x-ray angle corresponds to lower bone filling at 12 month after regenerative procedures. Cortellini & Tonetti observed that an intrabony defect with x-ray angle inferior to 25° provides better post surgical CAL value (1.5 mm more),

than a defect with angle wider than 37°, in guided tissue regeneration³¹.

The same observation was reported in induced periodontal regeneration technique based on amelogenin proteins (EMD, Enamel Matrix Derivative proteins), the x-ray angle influenced clinical outcomes³². Only Linares et al. did not find any correlation between angle and amount of regenerated tissue in defect treated with a combined approach (bone graft plus membrane)³³.

This difference observed in literature data underlines the necessity of choosing properly the surgical technique evaluating defect characteristics; the right selection of bio-materials may partially compensate the different prognosis due to periodontal lesion variables.

lesioni periapicali in atto o per valutare la bontà di una pregressa terapia endodontica, escludendo così la comparsa di future complicanze che potrebbero inficiare il risultato della procedura rigenerativa. Anche il grado di mobilità e la presenza di eventuali interferenze occlusali devono essere attentamente valutati durante la fase diagnostica. Sebbene non vi siano ancora dati conclusivi in letteratura, Fleszar³⁷ nel 1980 ha riportato come risultati migliori in termini di guadagno di CAL fossero ottenibili a seguito di terapia parodontale eseguita su elementi dentari stabili piuttosto che su denti mobili. Questi dati trovano riscontro anche nelle pubblicazioni più recenti come quella di Cortellini e collaboratori del 2001 e di Trejo e Weltman³⁸ del 2004 secondo le quali l'iper mobilità dentale è associata negativamente, e in maniera dose dipendente, agli esiti clinici delle metodiche rigenerative. Pertanto è opportuno includere la valutazione occlusale nel contesto della fase diagnostica parodontale e stabilizzare i denti con mobilità non fisiologica prima della chirurgica rigenerativa³⁹.

Biomateriali

Fattori di crescita

Lo scopo dei fattori di crescita applicati al campo della rigenerazione parodontale è

quello di promuovere la guarigione della ferita stimolando la differenziazione delle cellule mesenchimali indifferenziate in cellule del legamento parodontale.

Matrice proteica dello smalto (Emdogain)

L'EMD (*Enamel Matrix Derivative*) è stato il primo biomateriale introdotto nella terapia rigenerativa parodontale ad avere un'azione «biomimetica», servendosi dell'azione di fattori di crescita secreti durante l'embriogenesi dei tessuti dentali rappresentati dalle amelogenine^{40,41}.

L'EMD è costituito da un gel viscoso a basso pH che agisce da mezzo veicolante per le amelogenine che sono idrorepellenti. In virtù dell'azione dei sistemi tampone tissutali, la soluzione veicolante viene neutralizzata nel momento in cui l'EMD viene posizionato nel contesto della ferita parodontale rendendo così le amelogenine insolubili e determinandone la precipitazione sulla superficie radicolare. Quest'ultima deve essere adeguatamente condizionata perché le amelogenine possano formare dei legami stabili: il protocollo di condizionamento radicolare proposto da Blomlöf prevede l'uso di EDTA al 24% per 2 minuti seguito da irrigazione per 20 secondi con soluzione salina sterile⁴². Evidenze scientifiche suggeriscono come le cellule del legamento parodontale

esposte al gel di amelogenine mutino il loro fenotipo aumentando l'espressione di un gruppo di geni correlati a fattori di crescita e differenziazione⁴³⁻⁴⁵, compreso il fattore β di crescita trasformante (TGF- β)⁴⁶. Studi clinici e istologici dimostrano la capacità dell'EMD di indurre la neoformazione di legamento parodontale^{40,41}; inoltre le cellule aspecifiche del legamento in presenza del gel di amelogenine tendono a cambiare la propria morfologia rendendosi simili ai cementoblasti e favorendo la formazione di nuovo tessuto di supporto. I dati pubblicati in letteratura sottolineano l'efficacia delle amelogenine nella terapia rigenerativa parodontale con risultati clinici sovrapponibili a quanto è possibile ottenere mediante l'utilizzo di membrane, in termini sia di guadagno di CAL che di riempimento radiografico del difetto. Inoltre l'utilizzo delle amelogenine sembra essere associato a una ridotta incidenza di complicanze postoperatorie rispetto ai tradizionali protocolli di GTR⁴⁷⁻⁴⁹.

PDGF

I fattori di crescita di derivazione piastrinica possiedono un potenziale mitogenico e chemiotattico, in particolar modo il PDGF (*Platelet-Derived Growth Factor*) stimola la produzione di proteine da parte delle cellule di origine mesenchimale e promuove i

The third value that should be considered is the number of residual bone wall. The right comprehension of this parameters should be obtained correlating x-ray information with clinical parameters (periodontal probing). Intrabony defects may be classified in 1, 2 or 3 residual bone wall, but the natural morphology shows that a bone defect is often characterized by a variation of remaining number of bone wall moving apically into the lesion. It is easy to observe defect with a 1-wall coronal portion and a 3-walls apical situation. Several scientific papers have proved the statistical correlation between the number of bone walls and the clinical results observed after surgery^{18,34}. Anyway, regarding guided tissue regeneration

techniques, the datas are partially discordant; some authors declare that the rate of regeneration is influenced by the depth of the 3-wall part of the intrabony defect³⁵, others affirm that the regeneration of the most coronal part is incomplete, independently of the number of remaining walls^{28,29}. Despite the absence of a unique thesis in the scientific literature, the number of bone walls should be properly considered in planning surgical periodontal regeneration. A reduced number of walls should influence the clinician in choosing bio-materials that can improve blood clot stabilization. On the other side a 3-wall defect may be treated with non self space maintaining materials.

Tooth related prognostic factors

Periodontal regenerative therapy must be considered as an instrument able to dramatically change in a positive direction the prognosis of compromised teeth and must be integrated in a complete planning of oral rehabilitation conducted in accordance with all dental specialties. Cortellini & Tonetti, in a study published in 2000 conducted on 208 patients, observed that that endo-therapy does not influence short and long term healing of periodontal treated teeth³⁶. Pulp vitality does not seem to have any influence on regenerative therapy success, anyway a proper analysis of endodontics health should be done before starting

processi di rigenerazione di diversi tessuti, tra cui il legamento parodontale⁵⁰. In uno studio multicentrico randomizzato condotto su 180 difetti, è stato confrontato l'effetto del PDGF associato a un materiale riempitivo (β -tricalcio fosfato) con il solo materiale riempitivo. Sebbene si sia osservato un risultato migliore nel gruppo test in termini di riempimento osseo radiografico (57% contro 18%) e di crescita ossea radiografica lineare (2,6 mm contro 0,9 mm), clinicamente non è stata osservata differenza tra gruppo test e controllo in termini di guadagno di attacco clinico a sei mesi dalla terapia⁵¹.

Sulla base dei risultati derivanti da questa sperimentazione, e dalle precedenti sperimentazioni su modelli animali, il PDGF è stato introdotto in commercio in Canada e negli Stati Uniti, ma non è ancora disponibile in Italia. Sebbene i dati preliminari sembrino sostenere l'utilità di questo fattore di crescita nelle terapie rigenerative⁵², ulteriori studi sono necessari prima che possa essere considerato uno standard nelle procedure di GTR.

PRP

Il PRP è un concentrato piastrinico contenente diversi fattori di crescita tra cui il PDGF, il TGF- β (*Transforming Growth Factor- β*) e l'IGF (*Insulin-like Growth Factor*)⁵³, in grado di promuovere la rigenerazione parodontale. Sebbene siano

stati pubblicati studi che sottolineano le capacità rigenerative del PRP se associato a un materiale riempitivo, non vi sono evidenze circa il ruolo di questo fattore di crescita nella rigenerazione parodontale quando utilizzato da solo. In ogni caso la disomogeneità dei dati pubblicati in letteratura non permette di trarre conclusioni certe sull'effettiva efficacia clinica legata all'utilizzo di questo bioderivato⁵⁴⁻⁵⁷.

FGF-2

Il fattore di crescita fibroblastico 2 (*Fibroblast Growth Factor-2*) ha dimostrato avere capacità angiogeniche e di essere in grado di stimolare la differenziazione delle cellule mesenchimali del legamento parodontale in modelli animali^{58,59}. I dati derivanti da uno studio multicentrico condotto sull'uomo, al fine di valutare l'efficacia di differenti concentrazioni di FGF-2 con follow-up a 12, 24, 36 e 72 mesi, ha messo in evidenza come, pur non essendoci differenze cliniche in termini di guadagno di CAL tra gruppo test e gruppo controllo, l'analisi radiografica abbia evidenziato un maggior riempimento del difetto infraosseo nei siti sperimentali tratti con il fattore di crescita⁶⁰.

Sostituti ossei

Gli innesti ossei sostitutivi includono un gruppo eterogeneo di materiali di

origine umana, animale o sintetica. Un sostituto osseo ideale, oltre a essere biocompatibile, dovrebbe poter soddisfare le caratteristiche di osteoinduzione, osteogenesi e osteoconduzione. Per osteoinduzione si intende la capacità di stimolare il differenziamento delle cellule mesenchimali attraverso le proteine bioattive presenti nel materiale da innesto. L'osteogenesi è il processo attraverso il quale si ha la formazione di nuovo osso attraverso la presenza di cellule osteoblastiche attive all'interno dell'innesto stesso. L'osteoconduzione è la capacità del materiale da innesto di fungere da impalcatura all'interno della quale le cellule derivanti dalla componente ossea del paziente possono svilupparsi dando luogo alla rigenerazione ossea.

L'introduzione di membrane riassorbibili in terapia parodontale rigenerativa rappresenta una delle indicazioni all'utilizzo di innesti ossei sostitutivi. L'incapacità delle membrane riassorbibili di mantenere nel tempo una forma ideale a protezione e stabilizzazione del coagulo, e quindi al processo di rigenerazione, soprattutto in difetti non contenitivi e ampi, e di sostenere il tessuto molle evitandone il collasso all'interno del difetto stesso sono condizioni che possono essere in parte sopperite con l'utilizzo di un innesto osseo sostitutivo.

regenerative protocol. Eventual peri-apical lesions must be treated in order to prevent future complication that may affect periodontal regenerative therapy results.

Tooth mobility and occlusal interferences have to be evaluated in diagnostic phase; Fleszar³⁷ in 1980 reported that better results in term of CAL gain were obtained on stable tooth than other with different grade of mobility. These data were confirmed in 2001 by Cortellini et al. and by Trejo e Weltman³⁸ in 2004, both authors stated that tooth mobility is negatively associated with clinical outcomes. Occlusion situation should be investigated in the diagnostic phase, and eventual tooth mobility must be solved before surgical procedure³⁹.

BIO-MATERIALS

Growth factors

The goal of using growth factors in periodontal regeneration is to promote wound healing, inducing mesenchymal cells differentiation into periodontal ligament cells.

Enamel Matrix Protein (EMDOGAIN)

The EMD (Enamel Matrix Derivative) was the first growth factor introduced in periodontal regeneration protocols, it has a bio-mimetic action and it is based on specific proteins that are secreted during tooth genesis, amelogenins^{40,41}.

The EMD is a gel with low pH value that functions as

a vehicle for amelogenin proteins. Thanks to tissue tamponing system the vehicular substance is neutralized when EMD is placed into the surgical wound, the amelogenins become insoluble and precipitate on root surface.

The root surface has to be conditioned before EMD application in order to promote stable binding with amelogenins; the original protocol proposed by Blomlöf consist in using 24% EDTA for 2 minutes and irrigation with saline solution for 20 seconds⁴².

Scientific evidences prove that periodontal ligament cells stimulated by amelogenins change phenotype increasing the expression of gene related to growth factor and cells differentiation^{43,45}, in particular the presence

Osso autologo

L'utilizzo di un innesto autologo prevede il prelievo da una sede intraorale o extraorale di tessuto osseo da un individuo che rappresenta al contempo sia il donatore che il ricevente. L'osso autologo si distingue per le caratteristiche osteogenetiche dovute alla presenza di fattori di crescita intrinseci e per le sue capacità osteoinduttive; presenta inoltre l'indiscutibile vantaggio dell'assenza di problemi di compatibilità.

Per contro, le difficoltà legate al reperimento di una quantità di tessuto osseo sufficiente in corrispondenza del sito chirurgico, di frequente rendono necessaria l'esecuzione di un ulteriore intervento chirurgico per il prelievo di una quantità idonea di tessuto da innestare, con un aumento della morbidità per il paziente.

Il successo clinico di terapie rigenerative eseguite con innesti autologhi di tessuti osseo è difficilmente valutabile in quanto nella quasi totalità delle pubblicazioni a esso è stata associata un'altra tipologia di biomateriale.

Una caratteristica di questo tipo di innesto è quella di riassorbirsi in tempi molto brevi e questo fatto lo rende indicato in alcune situazioni cliniche e non indicato in altri casi, quando è necessario un effetto «scaffold» prolungato nel tempo.

Osso omologo

Con osso omologo si intende tessuto osseo proveniente da individui della stessa specie del ricevente. Solitamente viene prelevato da cadavere, entro 24 ore dal decesso, oppure nel contesto di altri interventi chirurgici.

L'osso viene raccolto in banche biologiche e conservato in forma semplicemente congelata, congelata liofilizzata, oppure congelato liofilizzato e deproteinizzato.

La diffusione dell'utilizzo dell'osso di banca è un fenomeno piuttosto recente in Europa, solitamente riservato a importanti interventi chirurgici di ricostruzione mascellare e mandibolare^{61,62}.

La capacità osteoinduttiva di questo tipo di innesto può variare in virtù della sede di prelievo e della modalità di conservazione del prelievo stesso; quanto detto non vale per quanto riguarda le capacità osteoconduttive. Bowers e collaboratori hanno dimostrato la neoformazione di legamento parodontale in difetti infraossei trattati con procedure rigenerative e innesto di tessuto osseo omologo⁶³.

Osso xenologo

L'osso xenologo proviene da specie diverse da quella del ricevente. L'inibizione delle proprietà immunogene di questa tipologia di innesto osseo viene solitamente ottenuta

privandolo della componente proteica.

L'innesto xenologo più utilizzato e che dispone di una ampissima letteratura a riguardo è senza dubbio l'osso bovino deproteinizzato (Bio-oss® Geistlich, CH): applicato nel contesto di tutte le terapie ricostruttive odontoiatriche (rigenerazione parodontale, ossea, preservazione dell'alveolo postestrattivo⁶⁴⁻⁶⁸), l'osso bovino deproteinizzato possiede un'ottima capacità osteoconduttiva oltre alla tendenza a riassorbirsi molto lentamente nel tempo, rimanendo a lungo nel sito di innesto. Quest'ultima peculiarità risulta di grande interesse clinico poiché permette di mantenere il volume ricreato con la terapia rigenerativa anche a distanza di molto tempo dalla fase chirurgica, consentendo una rimodellazione progressiva dell'osso autologo in uno spazio tridimensionale mantenuto stabilmente dall'innesto xenologo⁶⁹.

Osso alloplastico

L'osso alloplastico è un materiale, di origine sintetica o di derivazione naturale, con proprietà osteoconduttive.

Commercializzato in blocchi o in particelle di differenti granulometrie, può essere sia riassorbibile che non riassorbibile e risulta privo di complicanze legate a problemi di biocompatibilità.

of transforming growth factor β (TGF- β) is highlighted⁴⁶. Furthermore aspecific cells of periodontal ligament in the presence of EMD gel change their morphology in cementoblast shape, inducing the production of new supporting tissue. Clinical and histological studies proved the ability of EMD to promote periodontal ligament regeneration^{40,41}.

In terms of efficacy the induced periodontal regeneration obtained with amelogenins gel is comparable to guided tissue regeneration technique with membranes, both in terms of CAL gain and radiographic bone filling of the defect. Furthermore the use of amelogenins is associated with reduced rate of post surgical complication when comparing it with GTR^{47,49}.

PDGF

Platelet derived growth factors show high mitogenic and chemotaxis properties, they stimulate the production of proteins by mesenchymal stem cells and promote tissue regeneration, including periodontal ligament tissues⁵⁰. In a multicenter randomized clinical study conducted on 180 defects the PDGF in association with a filling material (β -tricalcium phosphate) was compared to the treatment with filling material alone. Despite a better result obtained in the test group in term of bone filling (57% versus 18%) and linear bone growth (2.6 mm versus 0.9 mm), no difference of CAL between the two groups has been highlighted six month after surgery⁵¹. On the basis of these and other results

published on PDGF, this growth factor has been introduced in commerce in Canada and United State of America, but it is still not available in Italy.

The preliminary data encourage the use of this product in regenerative therapy⁵², but more trials must be conducted before this material could be considered as a standard in regenerative procedures.

PRP

The PRP is a concentrate of platelet growth factors including PDGF, TGF- β (Transforming Growth Factor- β) and IGF (Insuline-like Growth Factor)⁵³ and it is able to promote periodontal regeneration. Several studies describe the efficacy of PRP when associated with a bone

Membrane

La membrana è un dispositivo fondamentale per il principio della rigenerazione guidata dei tessuti; un'ampia gamma di materiali sono stati utilizzati per produrle: il politetrafluoroetilene (PTFE), il politetrafluoroetilene espanso (e-PTFE), il collagene, l'acido polilattico, l'acido poliglicolico, alcuni polimeri, la dura madre, la fascia lata e il periostio prelevato dal cranio.

Caratteristiche di una membrana

Affinché possa essere utilizzata efficacemente come barriera, una membrana deve rispondere ad alcuni essenziali criteri di progettazione.

- **Biocompatibilità.** Il materiale non dovrebbe indurre reazioni immunitarie, sensibilizzazioni o infiammazioni croniche in grado di interferire con il processo di guarigione e sottoporre a rischio il paziente.
- **Effetto barriera.** Il materiale deve comportarsi come una membrana semipermeabile, consentendo la vascolarizzazione del sito operatorio e allo stesso tempo impedendo la colonizzazione del coagulo da parte delle cellule epiteliali e del connettivo gengivale, rispettando il principio di

esclusione cellulare.

- **Efficacia nel tempo dell'effetto barriera.**
- **Integrazione tissutale.** Il materiale che costituisce la membrana deve promuovere la crescita del tessuto all'interno della membrana stessa, evitando però fenomeni di incapsulamento.
- **Space making.** rappresenta la capacità della membrana di preservare in maniera stabile nel tempo uno spazio adeguato per il coagulo ematico a ridosso della superficie radicolare, consentendone la colonizzazione da parte delle cellule del legamento parodontale. Alcuni materiali presentano caratteristiche strutturali insufficienti a garantire un simile requisito, tendendo a crollare all'interno del difetto, mentre altri presentano una tale rigidità da poter perforare il tessuto molle sovrastante.
- **Maneggevolezza e versatilità.** La membrana dovrebbe risultare di facile gestione clinica per l'operatore, in termini di configurazione e di modellazione.

Membrane non riassorbibili

Il politetrafluoroetilene espanso (e-PTFE) è sicuramente il materiale maggiormente

utilizzato per la creazione di membrane non riassorbibili.

La molecola di base dell'e-PTFE consiste in un legame carboni-carbonio con fissaggio di quattro atomi di fluoro a formare un polimero con valori di microporosità variabili tra il 60% e l'80%. Queste caratteristiche rendono l'e-PTFE un materiale biologicamente inerte a permeabilità selettiva.

L'ampio utilizzo che nel corso degli anni è stato fatto di questa tipologia di membrana dipende dalle elevate proprietà di space-making, dall'ottimo controllo dell'effetto barriera nel tempo e dall'assenza del processo di riassorbimento della membrana che in qualche misura può interferire con il processo di rigenerazione.

Tuttavia, l'impiego di membrane non riassorbibili nelle procedure di GTR si è significativamente ridimensionato in virtù della necessità di una seconda fase chirurgica per la loro rimozione, di una elevata esperienza chirurgica dell'operatore nella gestione della membrana e dei lembi, e delle frequenti complicanze postoperatorie rappresentate per lo più dall'esposizione della membrana, con conseguente recessione dei tessuti molli.

substitute, but there is lack of evidence in the use of this bio-material alone. Anyway, the absence of uniformity in clinical data published do not allow to define the efficacy of PRP in periodontal regeneration^{54,57}.

FGF-2

Fibroblast Growth Factor-2 has been proved to be angiogenic and to be able to induce mesenchymal periodontal cells differentiation in animals^{58,59}. Data provided by a multi-center study conducted on humans point out the absence of clinical differences between test and control in terms of CAL, but the radiographic analysis showed better bone filling in the defects treated with FGF-2⁶⁰.

Bone Substitutes

Bone grafts include a various group of bio materials derived from humans, animals and synthetics. An ideal bone substitute should have osteogenic, osteoinductive and osteoconductive properties comparable to autologous bone and it must be biocompatible, without any antigenic effects, with space maintaining ability and should be easy to manage during surgical procedures. Osteoinduction is the property to stimulate mesenchymal cells differentiation by the presence of bio active proteins in the graft. Osteogenesis is a new bone formation process mediated by active osteoblast cells included in the graft. Osteoconduction is the ability of the bone graft to work as a scaffold for new bone formation, osteoblast coming

from bone component of the patient may proliferate and mature inside the new placed bone graft. The introduction of resorbable membranes in periodontal therapy was followed by an increased use of bone substitutes in order to compensate low scaffold ability of these membranes. In wide and non space maintaining defects, resorbable membranes are not able to sustain soft tissue and preserve the space necessary for blood clot and periodontal regeneration; this unfavorable conditions can be managed by the use of bone substitutes in order to fill and sustain membranes.

Autologous bone

The use of autologous bone consists in collecting the

Membrane riassorbibili

Tali barriere possono essere costituite da polimeri sintetici o da collagene. Nel primo caso i materiali solitamente utilizzati sono l'acido polilattico (PLA), l'acido poliglicolico (PLG) o co-polimeri di acido polilattico e poliglicolico; queste membrane vengono degradate per idrolisi all'interno del ciclo di Krebs con produzione di anidride carbonica e acqua⁷⁰. Il collagene di derivazione bovina o suina è un materiale molto utilizzato nella fabbricazione delle membrane riassorbibili, dal momento che costituisce fino al 50% delle proteine del corpo umano ed è quindi molto tollerato.

Le membrane riassorbibili in collagene, degradate dall'azione enzimatica dei macrofagi e dei leucociti polimorfonucleati, possiedono diverse caratteristiche peculiari in grado di influenzare positivamente il processo di rigenerazione del difetto parodontale:

- proprietà emostatiche;
- rapida stabilizzazione del coagulo;
- stimolazione dell'angiogenesi;
- proprietà chemiotattica nei confronti dei fibroblasti;
- struttura semipermeabile che permette il passaggio di sostanze nutrienti.

La rapida biodegradazione del collagene a opera dei macrofagi e di alcuni specifici batteri parodontali (per esempio, *Porphyromonas gingivalis*) può portare a una sensibile alterazione della durata nel tempo dell'effetto barriera, compromettendo l'esito della procedura rigenerativa⁷¹.

Nella maggior parte delle applicazioni cliniche le membrane riassorbibili hanno sostituito quelle non riassorbibili proprio per i loro numerosi vantaggi, che spaziano dal fatto di non necessitare di una seconda chirurgia per la loro rimozione, alla minore morbidità per il paziente, e al minore rischio di complicanze.

Riassorbibili vs non riassorbibili

In virtù delle differenti caratteristiche fisiche, chimiche e biologiche entrambe le tipologie di membrane possiedono vantaggi e svantaggi, che devono essere considerati dal clinico per poter scegliere la membrana ideale alla risoluzione del singolo caso clinico⁷² (tabella 1 e tabella 2). In definitiva una membrana riassorbibile risulta essere, unitamente a una struttura di sostegno che funga da supporto alla stabilità del coagulo (innesto), una scelta di elezione per la maggior parte dei difetti

TABELLA 1 – VANTAGGI E SVANTAGGI DELLE MEMBRANE NON RIASSORBIBILI

Vantaggi	<ul style="list-style-type: none"> • Elevata capacità space-making (soprattutto per membrane rinforzate in titanio) • Mantenimento dell'effetto barriera per un periodo più lungo • Assenza del processo di riassorbimento
Svantaggi	<ul style="list-style-type: none"> • Esposizione della membrana • Tecniche chirurgiche operatore-dipendente • Necessità di una seconda fase chirurgica • Maggiore morbidità

TABELLA 2 – VANTAGGI E SVANTAGGI DELLE MEMBRANE RIASSORBIBILI

Vantaggi	<ul style="list-style-type: none"> • Miglior rapporto costo/benefico • Rischio di complicanze postoperatorie inferiore • Gestione clinica più semplice • Assenza di una seconda fase chirurgica • Migliore biocompatibilità • Rapido riassorbimento in caso di esposizione senza alterare il processo di rigenerazione
Svantaggi	<ul style="list-style-type: none"> • Necessità di un materiale da innesto con azione di space-making (Trombelli, 2008; Sculean, 2008) • Difficoltà nella gestione dei tempi di riassorbimento

parodontali infraossei, dove il tempo di riassorbimento sia per membrane PLA che PLG è sufficiente a promuovere la

bone graft in an intra or extra oral site, and the patient represents both the donor and the receiver of the graft. Autologous bone represented for years the better choice for bone grafting for his osteogenic and osteoconductive properties and the absence of problem related to donor-receiver compatibility. The main disadvantage is the difficulty in getting the right quantity of bone in sites near the surgical wound, in this case a secondary surgical approach to get other autologous material should be necessary, with consequent increased morbidity for the patient. The clinical success in regenerative therapy with autologous bone is hard to be evaluated, in the majority of the published papers autologous bone was associated to another bone substitute. A specific property of this

graft is the high rate of graft resorption in time, the bone grafted reabsorb in a limited time period, this ability makes the autologous bone useful in some clinical cases, but not indicated when a long time scaffold effect is required.

Homologous bone

The homologous bone is a bone substitute deriving from donors of the same species of the receivers. Usually it is collected from cadaver within 24 hours after death or it is collected during orthopedic surgeries. The bone is stored in biologic banks in freeze, freeze-dried or deproteinized-freeze-dried forms. The homologous bone has been introduced only recently in Europe, it is mainly used for maxillary o mandibular reconstructive surgery^{61,62}. The osteoinductive

ability of this bone graft varies depending on the collecting site and on the kind of storing technique, on the contrary the osteoconductive properties remain mainly the same in all kind of homologous graft. Bowers et al. demonstrated new periodontal ligament formation in intrabony defect treated with regenerative procedures in association with homologous bone⁶³.

Xenologous bone

Xenologous bone is a bone graft deriving from different animal species. The deproteinization of this graft is able to inhibit immunogenic properties. Deproteinized bovine bone (Bio-oss® Geistlich, CH) is the most used xenologous bone graft, there is a great amount of published papers demonstrating

rigenerazione parodontale; invece una membrana non riassorbibile risulta più adatta a tecniche di rigenerazione ossea guidata (GBR) o alla gestione di difetti molto ampi, che necessitano di maggiore timing rigenerativo o grande stabilità a discapito di rischi legati all'esposizione delle membrane stesse.

Evoluzione delle tecniche chirurgiche

Tecnica di preservazione della papilla

Introdotta da Takei nel 1985³, questa tecnica rappresenta il primo tentativo di sviluppare una procedura chirurgica in grado di preservare il tessuto interdentale e di garantire una adeguata chiusura del sito chirurgico. L'accesso al difetto infraosseo avviene attraverso una incisione orizzontale intrasulcolare che si estende in senso mesio-distale rispetto al difetto da trattare; la papilla interdentale viene conservata nel contesto del lembo vestibolare. Una volta esposto il difetto infraosseo, l'accessibilità e le procedure di degranulazione e detartrasi possono essere ulteriormente facilitate eseguendo delle incisioni di rilascio verticali a livello del lembo vestibolare. La decisione di includere

nel lembo vestibolare il tessuto interdentale, sebbene trovi una giustificazione sul piano estetico evitando la formazione di cicatrici visibili alla base della papilla, ne rappresenta al contempo il limite. Il cambiamento dei volumi a livello interpossimale a seguito di procedure rigenerative legato alla presenza di biomateriali e membrane deve essere considerato e adeguatamente gestito con un disegno corretto del lembo e l'avanzamento coronale dello stesso. La tecnica di Takei risulta essere di difficile gestione per l'impossibilità di avanzare coronalmente il lembo vestibolare, dovendo affidare la chiusura per prima intenzione del sito operatorio all'avanzamento del lembo palatale/linguale, che risulta essere il più delle volte di complessa se non impossibile attuazione.

Tecnica modificata di conservazione della papilla

L'introduzione della MPPT (*Modified Papilla Preservation Technique*) da parte di Cortellini e collaboratori nasce dall'esigenza di ottenere e mantenere nel tempo una chiusura per prima intenzione del lembo a livello dello spazio interdentale al di sopra della membrana⁷³. L'accesso al difetto infraosseo si ottiene eseguendo un'incisione orizzontale alla

base della papilla interdentale sul lato vestibolare, incisione che si estende a livello intrasulcolare tanto sul lato mesiale che su quello distale al difetto stesso. Il lembo vestibolare viene successivamente scollato a tutto spessore, mentre il tessuto interdentale viene conservato nel contesto della porzione palatale/linguale del lembo anch'essa sollevata a spessore totale. La corretta esecuzione della MPPT prevede pertanto uno spazio interdentale sufficientemente ampio, superiore a 2,5 mm, per poter consentire il ribaltamento sul lato palatale della papilla. Una volta esposto il difetto infraosseo, l'accessibilità e le procedure di degranulazione e detartrasi possono essere ulteriormente facilitate eseguendo delle incisioni di rilascio verticali a livello del lembo vestibolare. Attraverso la MPPT, la variazione volumetrica a livello del sito chirurgico determinata dal posizionamento di una membrana e di un eventuale materiale da innesto può essere facilmente compensata attraverso l'avanzamento coronale del lembo vestibolare, ottenendo al contempo una adeguata chiusura primaria dell'area interdentale. La tecnica proposta da Takei, invece, non permetteva un controllo ottimale della chiusura del sito chirurgico

its safety and efficacy in all reconstructive surgery (bone regeneration, periodontal regeneration, post-extractive alveolar preservation)⁶⁴⁻⁶⁸. Deproteinized bovine bone graft has osteoconductive properties and slow resorption rate, it represent a perfect scaffold for cell proliferation and new bone formation. His slow resorption ability is useful for regenerative procedures, it is able to maintain the regenerated volume for long time allowing a progressive remodeling and reformation of new autogenous bone and periodontal ligament⁶⁹.

Alloplastic bone

Alloplastic bone is a synthetic material or derived from nature, with osteoconductive properties. It is commercialized in blocks or little particles of different dimensions, it can be

found both in resorbable or non resorbable composition and it does not present any biocompatibility risks.

Membranes

The membrane is a fundamental tool for guided tissue regeneration. A large number of materials have been used to produce membranes: polytetrafluorethylen (PTFE), expanded polytetrafluorethylen (e-PTFE), collagen, polylactic-polyglycolic acid, other polymers and periosteum.

Membrane characteristic

To be successfully used in periodontal regenerative surgery a membrane should have these characteristics:

- *Biocompatibility: the material should not induce immunologic reaction, sensibilisation or chronic inflammation. These events could interfere with healing process and there may be risks for the patient.*
- *Barrier effect: the material should act as a semi permeable membrane, allowing angiogenesis of surgical site and blocking epithelial cells colonization.*
- *Efficacy during time of the barrier effect.*
- *Tissutal integration: the material should promote cell proliferation inside the membrane.*
- *Space making: it is the ability of the membrane to maintain stable the blood clot during healing phase over root surface; this stability allow periodontal ligament cells colonization. Some membranes have structural*

in quanto il tessuto interdentale veniva conservato nel contesto del lembo vestibolare e l'avanzamento coronale del lembo palatale/linguale risultava di difficile gestione clinica.

Cortellini e collaboratori nel 1995 hanno ottenuto risultati clinici migliori in termini di livello di attacco al sondaggio (PAL) con la MPPT ($5,3 \pm 2,2$ mm) se paragonati a quelli ottenuti con metodiche quali il lembo di accesso ($2,5 \pm 0,8$ mm) e tecniche di GTR tradizionali ($4,1 \pm 1,9$ mm).

Sebbene questa procedura chirurgica sia stata introdotta per l'utilizzo in associazione con membrane non riassorbibili rinforzate in titanio, risultati clinici soddisfacenti sono stati raggiunti anche utilizzando membrane riassorbibili (PAL $4,5 \pm 1,2$ mm)⁷⁴.

La MPPT può essere eseguita in associazione con differenti biomateriali quali l'EMD, fattori di crescita o innesti ossei sostitutivi⁷⁵.

È importante sottolineare come il raggiungimento della chiusura per prima intenzione a livello interdentale sia strettamente dipendente non solo dal disegno del lembo ma anche dalla tecnica di sutura utilizzata.

La MPPT prevede l'esecuzione di una prima sutura a materassoio orizzontale interna incrociata, sostenuta dalla membrana

rinforzata in titanio e tesa tra la base della papilla palatale e il lembo vestibolare, la cui funzione è quella di attenuare la tensione dei lembi a favorire l'avanzamento coronale del lembo vestibolare. Successivamente viene eseguita una seconda sutura a materassoio orizzontale interna tesa tra la porzione più vicina al margine del lembo vestibolare e della papilla interdentale, al fine di garantire la chiusura per prima intenzione del sito chirurgico.

Sebbene la tecnica modificata di preservazione della papilla possa essere eseguita anche utilizzando membrane riassorbibili, la mancanza di rigidità di queste ultime è responsabile dello spostamento in direzione apicale della membrana stessa dopo esecuzione della prima sutura riducendo di conseguenza lo spazio a disposizione del processo di rigenerazione; tale mancanza di stabilità può essere compensata con l'uso di sostituti ossei al di sotto della membrana. Un'alternativa possibile alla tecnica del doppio materassoio è rappresentata da quella proposta da Laurell e Gottlow: la stabilizzazione e la chiusura primaria dei tessuti interdentali è garantita dall'azione compressiva dell'ansa palatale del materassoio orizzontale che viene assicurata sul lato vestibolare.

Tecnica semplificata di conservazione della papilla

La SPPT (*Simplified Papilla Preservation Technique*) è stata sviluppata nel tentativo di ovviare ad alcuni dei limiti clinici della MPPT rappresentati per lo più dalla difficile applicazione negli spazi interdentali ridotti e nelle regioni posteriori e dalla tecnica di sutura non adatta all'utilizzo con membrane non riassorbibili³⁰.

La tecnica semplificata di preservazione della papilla prevede l'esecuzione di un'incisione obliqua a livello dello spazio interdentale, mantenendo la lama del bisturi parallela all'asse maggiore del dente, che viene poi raccordata alle incisioni intrasulcolari sul lato mesiale e distale del difetto da trattare.

Parte del tessuto interdentale viene mantenuto nel contesto del lembo vestibolare e la restante porzione in quello palatale/linguale: questa tecnica di incisione è particolarmente indicata in siti interdentali con ampiezza inferiore o uguale a 2 mm. Successivamente sia il lembo vestibolare che quello palatale/linguale vengono sollevati a spessore totale.

TABLE 1 - NON RESORBABLE MEMBRANES

Advantages	<ul style="list-style-type: none"> ■ Space making ability (titanium reinforced membranes) ■ Longer persistence in site ■ Absence of membrane degradation process
Disadvantages	<ul style="list-style-type: none"> ■ Risk of membrane exposition ■ Depend on surgical skill ■ Necessity for a second surgery for membrane removal ■ Higher morbidity

polymer or collagen. The main polymer used are polylactic acid (PLA), polyglycolic acid (PLG) or a polymer of polylactic and polyglycolic acid. These kind of membranes are decomposed for hydrolysis in the Krebs cycle with consequent production of CO₂ and water⁷⁰. Collagen derived from bovine or pig family is the most used material in resorbable membrane production, it is composed in the 50% of proteins similar to human one and for this reason it is biocompatible and well

characteristics insufficient for maintain space, others have rigidity that stabilize coagulum, but may perforate soft tissue over membrane.

■ Easy handling and versatility: the membrane should be easy to be used in clinical situations.

Non resorbable membranes

Expanded polytetrafluoroethylen (e-PTFE) is the most used material for non resorbable membrane. The main molecule of e-PTFE consists in carbonic-carbonic ligand with four fluoro atoms that create a polymer with microporosity value between 60% and 80%. These characteristics confer to the e-PTFE selective membrane characteristics. This material has been used for years

because it has an high space maintaining ability and a great control of barrier membrane effect, without the inflammatory process due to membrane reabsorbing that may influence regenerative process. The use of this kind of membrane in GTR has been reduced due to the necessity of a second phase surgical access to remove the membrane. Furthermore, the successful use of non resorbable membrane is strictly connected to surgical skill in managing soft tissue, in order to avoid membrane exposition and consequent post operative complications that may affect clinical results.

Resorbable membranes

These membranes may be constituted of synthetic

Una volta esposto il difetto infraosseo, l'accessibilità e le procedure di degranulazione e detartrasi possono essere ulteriormente facilitate eseguendo delle incisioni di rilascio verticali a livello del lembo vestibolare.

La tecnica di sutura in grado di garantire una adeguata chiusura e stabilità dei lembi, l'avanzamento coronale del lembo vestibolare e di prevenire il collasso della membrana riassorbibile all'interno del difetto osseo è rappresentata dalla tecnica a materasso off-set.

La sutura è posizionata in sede decentrata rispetto al difetto verticale e decorre nello spazio interdentale a ridosso della cresta ossea residua frizionando lungo la superficie radicolare dell'elemento dentario.

In virtù del suo spessore, la papilla interdentale viene poi suturata con un punto staccato o con una sutura a materasso verticale.

Tecnica chirurgica mini-invasiva

I primi a parlare di tecniche minimamente invasive in chirurgia parodontale rigenerativa sono stati Hannes Wachtel e collaboratori nel 2003⁷⁶.

Nel 2007 Cortellini e Tonetti hanno presentato la tecnica MIST (*Minimally*

Invasive Surgical Technique) che è stata introdotta nel tentativo di promuovere gli esiti clinici delle procedure di rigenerazione tissutale attraverso una maggiore stabilità postoperatoria del coagulo ematico e, al contempo, ridurre la morbidità per il paziente¹³.

Questa procedura chirurgica prevede la realizzazione di un accesso a livello interdentale al difetto infraosseo in maniera analoga alle procedure precedentemente descritte: MPPT per siti con ampiezza interdentale superiore ai 2 mm, SPPT per spazi interdentali uguali o inferiori ai 2 mm. L'incisione a carico della papilla viene successivamente estesa a livello intrasulculare sia sul versante vestibolare che su quello palatale/linguale a carico dei denti adiacenti al difetto.

L'esecuzione di incisioni intrasulcolari consente la massima preservazione della banda di tessuto cheratinizzato e la loro ridotta estensione in senso mesio-distale è commisurata alla sola necessità di sollevare un lembo a tutto spessore tanto da esporre 1-2 mm di cresta ossea residua.

Qualsiasi forma di incisione di rilascio deve essere evitata quando possibile o, se

eseguita, deve rimanere nel contesto della gengiva cheratinizzata non coinvolgendo la mucosa alveolare.

Allo stesso modo è preferibile coinvolgere il solo spazio interdentale associato al difetto infraosseo, compatibilmente con le caratteristiche morfologiche di quest'ultimo.

**Tecnica chirurgica
«single flap approach»**

Proposta da Trombelli e collaboratori⁷⁷ nel 2009, la tecnica consiste nella realizzazione di un lembo a busta la cui estensione in senso mesio-distale risulta essere la minima possibile, compatibilmente con la possibilità di eseguire una adeguata degranulazione del difetto e di posizionare in maniera stabile tanto il biomateriale quanto la membrana. L'incisione orizzontale paramarginale viene eseguita solo sul lato vestibolare o palatale/linguale a seconda della morfologia del difetto infraosseo; a livello dello spazio interdentale l'incisione orizzontale è posizionata tanto più apicalmente quanto maggiore è la distanza in senso apico-coronale tra la sommità della papilla e la cresta ossea residua.

In questo modo è possibile garantire

accepted when grafted in human. Collagen resorbable membranes are decomposed by macrophages and polymorphonuclear leukocyte. This type of membranes has several characteristics able to positively influence periodontal regeneration process:

- Hemostasis
- Rapid blood clot stabilization
- Angiogenesis stimulation
- Chemotaxis for fibroblasts
- Semipermeable structure to allow the passage of nutrient factors.

An excessive rapid lysis of the collagen by macrophages and periodontal pathogens (ex. P.

TABLE 2 - RESORBABLE MEMBRANES	
Advantages	<ul style="list-style-type: none">■ Better benefits/risks ratio.■ Lower risk of post operative complications■ Better for clinical handling■ Absence of a second surgery■ Better biocompatibility■ In case of exposition they do not affect healing process
Disvantages	<ul style="list-style-type: none">■ Need for a grafting material to sustain membrane and soft tissue■ Variability in biodegradation timing

gingivalis) may modify the time when the membrane is still in place with barrier function, compromising periodontal regenerative therapy results⁷¹. In the majority of clinical applications resorbable membrane substituted the non resorbable ones for their various advantages previously described.

Resorbable vs non resorbable membranes

Due to their different characteristics and peculiarities, both type of membranes present specific indication in clinical practice.

The clinicians should chose the best membranes type for every single clinical cases⁷².

A resorbable membrane is the right choice in all the defects that need a permanence in site of the membrane compatible to PLA and PLG persisting time before degradation, on the other hand, a non resorbable membrane is indicated when a longer period of time is necessary for obtaining periodontal regeneration, in the case of wide defects or bone regeneration techniques (GBR).

una adeguata quota di tessuto molle non mobilitato nel contesto del lembo, facilitando le fasi successive di sutura e di chiusura per prima intenzione del sito chirurgico.

L'accesso al difetto infraosseo è garantito del sollevamento a tutto spessore del lembo sul solo lato vestibolare o palatale/linguale; la tecnica di sutura prevede l'esecuzione di un materassoio orizzontale interno.

Tecnica chirurgica mini-invasiva modificata

La tecnica M-MIST (*Modified Minimally Invasive Surgical Technique*)¹⁴ prevede la realizzazione di un accesso a livello interdentale al difetto infraosseo in maniera analoga alle procedure precedentemente descritte: MPPT per siti con ampiezza interdentale superiore ai 2 mm, SPPT per spazi interdentali uguali o inferiori ai 2 mm⁷².

L'incisione a carico della papilla viene successivamente estesa a livello intrasulcolare a carico degli elementi dentari adiacenti al difetto, coinvolgendo solamente il versante vestibolare. L'esecuzione di incisioni intrasulcolari consente la massima preservazione della banda di tessuto cheratinizzato e la

loro ridotta estensione in senso mesio-distale è commisurata alla sola necessità di sollevare un lembo di forma triangolare a tutto spessore tanto da esporre 1-2 mm di cresta ossea residua.

Il tessuto interdentale viene solo parzialmente scollato eseguendo delle incisioni in senso corono-apicale e vestibolo-palatale/linguale.

La porzione più coronale del tessuto interdentale deve essere separata dal tessuto di granulazione che colma il difetto infraosseo posizionando la lama del bisturi perpendicolarmente alla corticale palatale/linguale in corrispondenza del suo margine coronale. Un simile disegno di lembo riduce in parte il valore prognostico negativo legato alla morfologia del difetto infraosseo: la quota di tessuto molle non coinvolta nel disegno del lembo fornisce una adeguata stabilizzazione del coagulo promuovendo la rigenerazione dei tessuti parodontali.

Protocollo terapeutico postoperatorio

Il regime postoperatorio istituito dopo una procedura di GTR è essenzialmente finalizzato alla prevenzione dell'infezione e della contaminazione della ferita.

Secondo una metanalisi pubblicata nel 2003⁷⁸, risultati clinici migliori in termini di guadagno di attacco si associano a protocolli postoperatori più rigidi e stringenti (tabella 3).

Mantenimento a lungo termine

La percentuale di successo delle tecniche rigenerative ha un range a lungo termine (10 anni o più) che va dal 90% all'87,5%, al 75%, e questo sia con membrane non riassorbibili che con membrane riassorbibili associate a innesti di BioOss oppure con l'utilizzo di amelogenine^{47,79-82}. È quindi possibile affermare che la terapia parodontale rigenerativa è una metodica predicibile e mantenibile nel tempo. In generale si può riassumere affermando che la quasi totalità degli studi riguardanti le tecniche rigenerative hanno sottolineato benefici significativi nella gestione dei difetti infraossei e nelle forcazioni mandibolari di II classe, mentre la possibilità di trattamento di forcazioni di III classe rimane priva di supporto scientifico.

Una interessante metanalisi pubblicata nel 2008 sottolinea come il risultato medio dei trattamenti rigenerativi infraossei sia una riduzione di sondaggio

SURGICAL TECHNIQUES EVOLUTION

Papilla preservation technique

Introduced by Takei in 1985³, this technique represents the first surgical procedure specially designed to preserve interdental tissue and guarantees healing for primary intention. A palatal intrasulcular horizontal incision is realized with mesio-distal extension depending on defects position and dimension; the interdental papilla must be preserved in the vestibular aspect of the flap. After the exposition of intrabony defect the procedures of degranulation and tartar removal can be realized without the need for secondary vertical incisions in the vestibular aspect. The decision to realize the incision in the palatal

aspect is motivated by the necessity to preserve esthetics, avoiding scar formation in the vestibule.

Volume modification due to periodontal regenerative procedures (bone graft, membrane) should be managed with a coronal slide of the flap, but in the case of Takey technique this phase result really complicated or, in some case impossible. When moving coronally the vestibular flap, the primary occlusion over the regenerated site results hard to realize because the palatal aspect is stable and there is no correspondence between vestibular flap coronally moved and the stable palatal soft tissue.

Modified Papilla Preservation Technique

The introduction of MPPT (Modified Papilla Preservation

Technique) by Cortellini et al. is motivated by the necessity of a primary intension closure of the interdental tissue over regenerated site with membranes⁷³.

Access to the bone defect is achieved by an horizontal incision realized in the basis of the interdental papilla on vestibular aspect, this incision continues intrasulcular both in mesial and distal site of the papilla. At this time a vestibular flap is elevated and the interdental papilla is preserved together with the palatal flap that will be elevated and preserved for achieving primary closure. The MPPT can be realized when intrabony space is wider than 2.5 mm, in order to allow papilla passing from vestibule to palate. When the defect is exposed, eventual vertical incision may be done to increase visibility.

TABELLA 3 – PROTOCOLLO POSTOPERATORIO	
Membrane Riassorbibili	<ul style="list-style-type: none"> • Terapia antibiotica per 7 gg (doxiciclina o amoxicillina) • Sospensione delle manovre interdentali e meccaniche di igiene orale domiciliare per le prime 6-8 settimane
EMDOGAIN	<ul style="list-style-type: none"> • Clorexidina 0,2% (sciacqui 3 volte/die per 6-8 settimane) • Igiene orale professionale a cadenza settimanale per le prime 6-8 settimane • Reintroduzione delle manovre interdentali e meccaniche di igiene orale domiciliare
Con o senza innesto	<ul style="list-style-type: none"> • Igiene orale professionale a cadenza mensile dopo 2 mesi dalla chirurgia • Controllo radiografico e clinico (sondaggio) non prima di 12 mesi
Membrane Non riassorbibili	<ul style="list-style-type: none"> • Terapia antibiotica per 7 gg (doxiciclina o amoxicillina) • Sospensione delle manovre interdentali e meccaniche di igiene orale domiciliare per le prime 4-6 settimane • Clorexidina 0,2% (sciacqui 3 volte/die per 4-6 settimane) • Igiene orale professionale a cadenza settimanale per le prime 4-6 settimane • Rimozione della membrana a 4-6 settimane • Clorexidina 0,2% (sciacqui 3 volte/die per 3-4 settimane) • Reintroduzione delle manovre interdentali e meccaniche di igiene orale domiciliare • Igiene orale professionale a cadenza mensile dopo 2 mesi dalla chirurgia • Controllo radiografico e clinico (sondaggio) non prima di 12 mesi

di 3,21±1,36 mm, con un guadagno medio di attacco di 4,37 mm, mentre per ciò che riguarda il trattamento di forcazioni di II classe si hanno risultati positivi, ma che raramente esitano nella conversione dalla II alla I classe⁸³.

In molti studi è stata confrontata la tecnica di OFD con le tecniche rigenerative e in particolare modo in una revisione pubblicata da Needleman⁸⁴ sono stati analizzati più studi randomizzati controllati dove si confrontava la tecnica rigenerativa

con l'Open Flap Debridment (OFD). L'Autore ha evidenziato come le tecniche rigenerative abbiano risultati statisticamente migliori dell'OFD in termini di guadagno di attacco clinico, riduzione della profondità di sondaggio, minore aumento di recessione dopo la terapia. Uno studio significativo sui risultati a lungo termine del trattamento con tecniche rigenerative è stato pubblicato nel 2004 da Cortellini e Tonetti⁸⁵: sono stati analizzati 170 denti parodontalmente

compromessi con un follow up fino a 10 anni, la percentuale di elementi mantenuti dopo la terapia è stata pari al 96%, sottolineando come denti parodontalmente compromessi, se trattati, possono essere mantenuti nel lungo periodo, garantendo quindi la funzione e l'estetica per il paziente, senza necessità di interventi implantari o protesici.

Nel 2011 Silvestri e collaboratori⁴⁸ hanno pubblicato uno studio su 120 casi di difetti infraossei trattati con diverse tecniche rigenerative (EMD e GTR) con follow up fino a 13 anni dalla terapia.

Anche in questo caso è stato mostrato come i denti trattati siano stati mantenuti a 13 anni con una percentuale di successo superiore al 90%, e anche i risultati clinici ottenuti con la chirurgia in termini di guadagno di attacco clinico sono stati mantenuti con alta percentuale di successo nel lungo periodo (82% a 11 anni).

Da questa pubblicazione si evince come le tecniche rigenerative, sia con amelogenine che con membrana riassorbibile e BioOss, diano risultati positivi e mantenibili nel tempo a patto che la terapia sia realizzata secondo le linee guida della letteratura scientifica e il paziente sia coinvolto nel cammino terapeutico. La mancata partecipazione al protocollo

Volumetric variation determined by the placement of bone graft and membrane can be compensated with coronally advancing of vestibular flap, obtaining a primary closure of the interdental aspect. Cortellini et al. in 1995 obtained better clinical results in terms of clinical attachment level (CAL) using MPPT (5.3±2.2 mm) if compared to results achieved with conventional access flap (2.5±0.8 mm) or GTR traditional techniques (4.1±1.9 mm). The MPPT was introduced when guided tissue regeneration was still realized with non resorbable membrane, but encouraging clinical results were obtained also in association with resorbable membranes (CAL 4.5±1.2 mm)⁷⁴. The MPPT may also be used for

periodontal regeneration with growth factors⁷⁵. The primary intention closure of the interdental space depends both on flap design and suturing technique. MPPT was designed to be associated with a first horizontal internal cross mattress suture which is sustained by the non resorbable membrane and consents the coronal moving of the flap. Then a second horizontal internal mattress suture is realized in the top part of both flap (vestibular and palatal with papilla) in order to close perfectly the papilla over the vestibular flap and consent connective tissues interaction. An alternative suturing technique for MPPT flap is the Laurell & Gottlow suture: the stability and closure of soft

tissues is guaranteed by compressive action of palatal bend of the internal mattress suture that is stabilized over vestibular flap.

Simplified Papilla Preservation Technique

The SPPT (Simplified Papilla Preservation Technique) has been developed to overcome the problems related to MPPT, specifically to make possible a papilla preservation technique in interdental spaces inferior to 2.5 mm or in posterior area of the mouth⁸⁰. Simplified papilla preservation technique is based on an oblique incision through interdental space, with the scalpel blade parallel to major axes of the tooth and this incision continues with intrasulcular incision on

periodico di igiene orale professionale e il fumo sono risultati essere fattori statisticamente significativi correlati con il maggiore rischio di perdere l'elemento dentario trattato. È importante sottolineare come, in questo

articolo, i biomateriali utilizzati non sembrano influenzare il risultato finale essendo stata calibrata la terapia (scelta della tecnica chirurgica e dei biomateriali) in relazione alle caratteristiche del singolo difetto, preferendo in difetti

con angolo radiografico ristretto e capacità contenitiva l'utilizzo di emdogain, mentre in difetti più ampi l'utilizzo di membrane spesso associate a innesti ossei.

bibliografia - references

1. Garret S. Periodontal regeneration around natural teeth. In: Genco R (ed). *World Workshop in Periodontics*. Lansdowne (VA): American Academy of Periodontology, 1996: 621-66.
2. Ramfjord SP. The role of dental health education and auxiliary personnel in the prevention of periodontal disease. *J Ala Dent Assoc* 1974;58:25-30.
3. Takei HH, Han TJ, Carranza FA, Kenney EB, Lekovic V. Flap technique for periodontal bone implants. Papilla preservation technique. *J Periodontol* 1985; 56:204-10.
4. Gantes BG, Garrett S. Coronally advanced flaps in reconstructive periodontal therapy. *Dent Clin North Am* 1991;35:495-504.
5. Becker W, Becker BE, Berg L, Prichard J, Caffesse R, Rosenberg E. New attachment after treatment with root isolation procedures: report for treated Class III and Class II furcations and vertical osseous defects. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1988;8:8-23.
6. Selvig KA, Kersten BG, Chamberlain AD, Wikesjö UM, Nilvéus RE. Regenerative surgery of intrabony periodontal defects using ePTFE barrier membranes: scanning electron microscopic evaluation of retrieved membranes versus clinical healing. *J Periodontol* 1992;63:974-8.
7. Murphy KG. Postoperative healing complications associated with Gore-Tex Periodontal Material. Part I. Incidence and characterization. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1995;15:363-75.
8. De Sanctis M, Zucchelli G, Clauser C. Bacterial colonization of barrier material and periodontal regeneration. *J Clin Periodontol* 1996;23:1039-46.
9. Trombelli L, Kim CK, Zimmerman GJ, Wikesjö UM. Retrospective analysis of factors related to clinical outcome of guided tissue regeneration procedures in intrabony defects. *J Clin Periodontol* 1997;24:366-71.
10. Ramseier CA, Rasperini G, Batia S, Giannobile WV. Advanced regenerative technologies for periodontal tissue repair. *Periodontology* 2000; 2011 accepted for publication.
11. Wikesjö UM, Nilvéus R. Periodontal repair in dogs: effect of wound stabilization on healing. *J Periodontol* 1990;61:719-24.
12. Wachtel H, Schenk G, Böhm S, Weng D, Zuhre O, Hürzeler MB. Microsurgical access flap and enamel matrix derivative for the treatment of periodontal intrabony defects: a controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 2003;30:496-504.
13. Cortellini P, Tonetti MS. Minimally invasive surgical technique and enamel matrix derivative in intra-bony defects. I: Clinical outcomes and morbidity. *J Clin Periodontol* 2007 34:1082-8.
14. Cortellini P, Tonetti MS. Improved wound stability with a modified minimally invasive surgical technique in the regenerative treatment of isolated interdental intrabony defects. *J Clin Periodontol* 2009;36:157-63.
15. Trombelli L, Farina R, Franceschetti G, Calura G. Single-flap approach with buccal access in periodontal reconstructive procedures. *J Periodontol* 2009;80:353-60.
16. Trombelli L, Simonelli A, Pramstraller M, Wikesjö UM, Farina R. Single flap approach with and without guided tissue regeneration and a hydroxyapatite biomaterial in the management of intraosseous periodontal defects. *J Periodontol* 2010;81:1256-63.
17. Bowers GM, Chadroff B, Carnevale R, Mellonig J, Corio R, Emerson J, Stevens

mesial and distal part of the site that has to be treated. A part of interdental tissue is maintained adherent to the vestibular flap and the remaining part remains in the palatal/lingual aspect. This incision is specifically designed for intrabony spaces with interdental width inferior or equal to 2 mm. After flaps elevation and defect exposition, root scaling and defect debridement are performed. The most indicated suture to guarantee primal intension closure and coronally advanced flap is the offset inner mattress suture. The suture is placed laterally to vertical defect and pass through interdental space adherent to residual bone crest along interproximal root surface. The papilla is sutured with a single point suture or with a vertical inner mattress suture.

Minimally invasive surgical technique

Hannew Watchel et al. was the first author introducing minimally invasive surgical technique for periodontal regeneration in 2003⁷⁶. In 2007 Cortellini & Tonetti presented MIST technique (Minimally Invasive Surgical Technique), introduced with the aim to improve clinical success by increasing blood clot stability and reducing patient morbidity¹³. This surgical procedure is based on an interproximal access to the defect with MPPT similar incision for defect in teeth with interproximal dimension inferior to 2 mm and SPPT when the interproximal space is higher than 2.5 mm. The papilla incision has to be extended intrasulcularly both in vestibular and palatal/lingual direction in the teeth involved in bony

defect. The execution of intrasulcular incision allows to preserve all the keratinized tissue and the mesial-distal extension is determined by the necessity to expose just 1-2 mm of residual bone crest. Realising incisions have to be avoided if possible, or, if done, should remain in keratinized tissue without involving alveolar mucosa. It would be better to include only interdental space associated to intrabony defect.

"Single Flap approach"

Trombelli et al.⁷⁷ in 2009 proposed this technique, it consists in an envelope flap with minimal mesio-distal extension, sufficient only for defect debridement and membrane or growth factor positioning.

- M, Romberg E. Histologic evaluation of new attachment apparatus formation in humans. Part III. *J Periodontol* 1989;60:683-93.
18. Schallhorn RG, Hiatt WH, Boyce W. Iliac transplants in periodontal therapy. *J Periodontol* 1970;41:566-80.
19. Caton J, Nyman S, Zander H. Histometric evaluation of periodontal surgery. II. Connective tissue attachment levels after four regenerative procedures. *J Clin Periodontol* 1980;7:224-31.
20. Rosen PS, Reynolds MA, Bowers GM. The treatment of intrabony defects with bone grafts. *Periodontol* 2000 2000;22:88-103.
21. Ellegaard B. Treatment of intrabony defects. *Dtsch Zahnarztl Z* 1979;34:310-2.
22. Melcher AH. On the repair potential of periodontal tissues. *J Periodontol* 1976;47:256-60.
23. Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rylander H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1982;9:290-6.
24. Gottlow J, Nyman S, Karring T, Lindhe J. New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 1984;11:494-503.
25. Gottlow J, Nyman S, Lindhe J, Karring T, Wennström J. New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case reports. *J Clin Periodontol* 1986;13:604-16.
26. Heijl L, Heden G, Svärdröm G, Ostgren A. Enamel matrix derivative (EMDOGAIN) in the treatment of intrabony periodontal defects. *J Clin Periodontol* 1997;24:705-14.
27. Garrett S, Loos B, Chamberlain D, Egelberg J. Treatment of intraosseous periodontal defects with a combined adjunctive therapy of citric acid conditioning, bone grafting, and placement of collagenous membranes. *J Clin Periodontol* 1988;15:383-9.
28. Tonetti MS, Pini-Prato G, Cortellini P. Periodontal regeneration of human intrabony defects. IV. Determinants of healing response. *J Periodontol* 1993;64:934-40.
29. Tonetti MS, Prato GP, Cortellini P. Factors affecting the healing response of intrabony defects following guided tissue regeneration and access flap surgery. *J Clin Periodontol* 1996;23:548-56.
30. Cortellini P, Prato GP, Tonetti MS. The simplified papilla preservation flap. A novel surgical approach for the management of soft tissues in regenerative procedures. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1999;19:589-99.
31. Cortellini P, Tonetti M. Radiographic defect angle influences the outcome of GTR therapy in intrabony defects. *J Dent Res* 78:381 (abstract).
32. Tsitoura E, Tucker R, Suvaran J, Laurell L, Cortellini P, Tonetti M. Baseline radiographic defect angle of the intrabony defect as a prognostic indicator in regenerative periodontal surgery with enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol* 2004;31:643-47.
33. Liñares A, Cortellini P, Lang NP, Suvaran J, Tonetti MS; European Research Group on Periodontology (ErgoPerio). Guided tissue regeneration/deproteinized bovine bone mineral or papilla preservation flaps alone for treatment of intrabony defects. II: radiographic predictors and outcomes. *J Clin Periodontol* 2006;33:351-8.
34. Goldman H, Cohen W. The infrabony pocket: classification and treatment. *J Periodontol* 1958;29:272-91.
35. Selvig KA, Kersten BG, Wikesjö UM. Surgical treatment of intrabony periodontal defects using expanded polytetrafluoroethylene barrier membranes: influence of defect configuration on healing response. *J Periodontol* 1993;64:730-3.
36. Cortellini P, Tonetti M. Evaluation of the effect of tooth vitality on regenerative outcomes in intrabony defects. *J Clin Perio* 2000; 28:672-9.
37. Fleszar TJ, Knowles JW, Morrison EC, Burgett FG, Nissle RR, Ramfjord SP. Tooth mobility and periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1980;7:495-505.
38. Trejo PM, Weltman RL. Favorable periodontal regenerative outcomes from teeth with presurgical mobility: a retrospective study. *J Periodontol* 2004;75:1532-8.
39. Hallmon WW, Harrel SK. Occlusal analysis, diagnosis and management in the practice of periodontics. *Periodontol* 2000; 2004;34:151-64.
40. Bosshardt DD. Biological mediators and periodontal regeneration: a review of enamel matrix proteins at the cellular and molecular levels. *J Clin Periodontol* 2008; 35(Suppl):87-105. Review.
41. Rasperini G, Silvestri M, Schenk RK, Nevins ML. Clinical and histologic evaluation of human gingival recession treated with a subepithelial connective tissue graft and enamel matrix derivative (Emdogain): a case report. *Int J Periodontics Restorative Dents* 2000;20:269-75.
42. Blomlöf J, Blomlöf L, Lindskog S. Effect of different concentrations of EDTA on smear removal and collagen exposure in periodontitis-affected root surfaces. *J Clin Periodontol* 1997;24:534-7.
43. Parkar MH, Tonetti M. Gene expression profiles of periodontal ligament cells treated with enamel matrix proteins in vitro: analysis using cDNA arrays. *J Periodontol*. 2004;75:1539-46.
44. Cattaneo V, Rota C, Silvestri M, Piacentini C, Forlino A, Sartori S, Gallanti A, Rasperini G, Cetta G. Effect of enamel matrix derivative on human periodontal

The horizontal para-marginal incision must be executed only in palatal/lingual or vestibular site depending on defect characteristics, in the interdental space the height of the incision depend on the distance between interdental papilla apex and the top of the remaining bone crest. In this way it is possible to guarantee an adequate dimension of stable soft tissue making easier suturing techniques and closure for primary intension of the wound.

Access to bone defect is guaranteed by the full flap elevation of the flap only in vestibular or palatal/lingual aspect; this technique has been associated with a suturing technique based on a single horizontal inner mattress suture.

Modified Minimally Invasive Surgical Technique

The M-MIST (Modified Minimally Invasive Surgical Technique)¹⁴ is based on an access to the defect only in interdental portion, similarly to previously described method. The MPPT incision should be realized in situation with interdental spaces minor to 2 mm, SPPT for interdental spaces wider than 2.5 mm⁷².

The incision realized in the base of the papilla has to be extended intrasulcularly to adjacent tooth only in the vestibule. Intrasulcular incisions allow to maximally preserve keratinized tissue and the mesio-distal extension is guided by the necessity to expose just 1-2 mm or residual bone crest.

Interdental tissue is only partially elevated with

corono-apical and vestibulo-palatal/lingual little incisions. The most coronal part of the the interdental tissue must be separated from granulation tissue with scalpel blade used perpendicularly to palatal/lingual cortical in the coronal margin.

This kind of flap reduce negative prognostic factors related to defect morphology, the part of soft tissue preserved guarantee coagulum stabilization, promoting periodontal regenerative healing.

POST-OPERATIVE PROTOCOL

Post-operative protocol after periodontal regeneration is finalized to minimize risks of infection or contamination of the wound. A meta-analysis published

bibliografia - references

fibroblasts: proliferation, morphology and root surface colonization. *An In Vitro study. J Periodontol Res* 2003;38:568-74.

45. Brett PM, Parkar M, Olsen I, Tonetti M. Expression profiling of periodontal ligament cells stimulated with enamel matrix proteins in vitro: a model for tissue regeneration. *J Dent Res* 2002;81:776-83.

46. Lyngstadaas SP, Lundberg E, Ekdahl H, Andersson C, Gestrelus S. Autocrine growth factors in human periodontal ligament cells cultured on enamel matrix derivative. *J Clin Periodontol* 2001;28:181-8.

47. Esposito M, Grusovin MG, Papanikolaou N, Coulthard P, Worthington HV. Enamel matrix derivative (Emdogain(R)) for periodontal tissue regeneration in intrabony defects. *Cochrane Database Syst Rev* 2009;CD003875.

48. Silvestri M, Rasperini G, Milani S. 120 intrabony defects treated with regenerative therapy: long-term results. *J Periodontol* 2011;82:668-75. Epub 2010 Nov 16.

49. Sanz M, Tonetti MS, Zabalegui I, Sicilia A, Blanco J, Rebelo H, Rasperini G, Merli M, Cortellini P, Suvan JE. Treatment of intrabony defects with enamel matrix proteins or barrier membranes: results from a multicenter practice-based clinical trial. *J Periodontol* 2004;75:726-33.

50. Giannobile WV, Somerman MJ. Growth and amelogenin-like factors in periodontal wound healing. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:193-204.

51. Nevins M, Giannobile WV, McGuire MK, et al. Platelet-derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain: results of a large multicenter randomized controlled trial. *J Periodontol* 2005;76:2205-15.

52. Ridgway HK, Mellonig JT, Cochran DL. Human histologic and clinical evaluation of recombinant human platelet-derived growth factor and beta-tricalcium phosphate for the treatment of periodontal intraosseous defects. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2008;28:171-9.

53. Okuda K, Kawase T, Momose M, et al. Platelet-rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro. *J Periodontol* 2003;74:849-57.

54. Hanna R, Trejo PM, Weltman RL. Treatment of intrabony defects with bovine-derived xenograft alone and in combination with platelet-rich plasma: a randomized clinical trial. *J Periodontol* 2004;75:1668-77.

55. Okuda K, Tai H, Tanabe K, et al. Platelet-rich plasma combined with a porous hydroxyapatite graft for the treatment of intra-bony periodontal defects in humans: a comparative controlled clinical study. *J Periodontol* 2005;76:890-8.

56. Demir B, Sengun D, Berberoglu A. Clinical evaluation of platelet-rich plasma and bioactive glass in the treatment of intra-bony defects. *J Clin Periodontol* 2007;34:709-15.

57. Yassibag-Berkman Z, Tuncer O, Subasioglu T, Kantarci A. Combined use of platelet-rich plasma and bone grafting with or without guided tissue regeneration in the treatment of anterior interproximal defects. *J Periodontol* 2007;78:801-9.

58. Takayama S, Murakami S, Shimabukuro Y, Kitamura M, Okada H (2001). Periodontal regeneration by FGF-2 (bFGF) in primate models. *J Dent Res* 2001;80:2075-9.

59. Murakami S, Takayama S, Kitamura M, Shimabukuro Y, Yanagi K, Ikezawa K, et al. Recombinant human basic fibroblast growth factor (bFGF) stimulates periodontal regeneration in class II furcation defects created in beagle dogs. *J Periodontol Res* 2003; 38:97-103.

60. Kitamura M, Akamatsu M, Machigashira M, Hara Y, Sakagami R, Hirofuji T, et al. FGF-2 stimulates periodontal regeneration: results of a multi-center randomized clinical trial. *J Dent Res* 2011;90:35-40.

61. Maiorana C, Beretta M, Battista Grossi G, Santoro F, Scott Herford A, Nagursky H, Cicciù M. Histomorphometric evaluation of anorganic bovine bone coverage to reduce autogenous grafts resorption: preliminary results. *Open Dent J* 2011;5:71-8.

62. Fontana F, Santoro F, Maiorana C, Iezzi G, Piattelli A, Simion M. Clinical and histologic evaluation of allogeneic bone matrix versus autogenous bone chips associated with titanium-reinforced e-PTFE membrane for vertical ridge augmentation: a prospective pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008;23:1003-12.

63. Bowers G, Felton F, Middleton C, Glynn D, Sharp S, Mellonig J, Corio R, Emerson J, Park S, Suzuki J, Ma S, Romberg E, Reddi AH. Histologic comparison of regeneration in human intrabony defects when osteogenin is combined with demineralized freeze-dried bone allograft and with purified bovine collagen. *J Periodontol* 1991;62:690-702.

TABLE 3 – POST-OPERATIVE PROTOCOL

Resorbable Membrane	<ul style="list-style-type: none">• Antibiotic for 7 dd (doxycycline or amoxicillin)• Suspension of interdental and mechanical plaque removal domestic procedures for 6-8 weeks
Emdogain	<ul style="list-style-type: none">• Chlorhexidine 0,2% (rinse 3 times/day for 6-8 weeks)• Professional hygiene every week for 6-8 weeks• Reintroduction of domestic oral hygiene procedure at 6-8 weeks• Professional oral hygiene every 2 months
With or without graft	<ul style="list-style-type: none">• Radiographic and clinical control never before 12 months
Non resorbable membrane	<ul style="list-style-type: none">• Antibiotic for 7dd (doxycycline or amoxicillin)• Suspension of interdental and mechanical plaque removal domestic procedures for 4-6 weeks• Chlorhexidine 0,2% (rinse 3 times/day for 4-6 weeks)• Professional hygiene every week for 4-6 weeks• Membrane removal at 4-6 weeks• Chlorhexidin 0,2% (rinse 3 times/day for 3-4 weeks)• Reintroduction of domestic oral hygiene procedure at 6-8 weeks• Professional oral hygiene every 2 months• Radiographic and clinical control never before 12 months

in 2003,⁷⁸ reports better clinical results in terms of CAL gain in strict and rigorous post operative protocols.

LONG TERM MAINTENANCE

The percentage of long term success (10 years or more) of periodontal regenerative therapy varies between 90% and 70%, with non resorbable membranes, resorbable membrane associated with bone grafts and with amelogenins^{47,79-82}. It is possible to affirm that periodontal regeneration is a predictable therapy that provides clinical success, maintainable in time. The majority of the studies published on regenerative therapy has highlighted significant clinical benefit in intrabony defects and in mandibular furcation class II, but the treatment of

64. Camelo M, Nevins ML, Schenk RK, Simion M, Rasperini G, Lynch SE, Nevins M. Clinical, radiographic, and histologic evaluation of human periodontal defects treated with Bio-Oss and Bio-Gide. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1998;18:321-31.
65. Tonetti MS, Fourmoussis I, Suvan J, Cortellini P, Brägger U, Lang NP; European Research Group on Periodontology (ERGOPERIO). Healing, post-operative morbidity and patient perception of outcomes following regenerative therapy of deep intrabony defects. *J Clin Periodontol* 2004;31:1092-8.
66. Simion M, Fontana F, Rasperini G, Maiorana C. Vertical ridge augmentation by expanded-polytetrafluoroethylene membrane and a combination of intraoral autogenous bone graft and deproteinized anorganic bovine bone (Bio Oss). *Clin Oral Implants Res* 2007;18:620-9.
67. Nevins ML, Camelo M, Rebaudi A, Lynch SE, Nevins M. Three-dimensional micro-computed tomographic evaluation of periodontal regeneration: a human report of intrabony defects treated with Bio-Oss collagen. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2005;25:365-73.
68. Rasperini G, Canullo L, Dellavia C, Pellegrini G, Simion M. Socket grafting in the posterior maxilla reduces the need for sinus augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2010;30:265-73.
69. Sartori S, Silvestri M, Forni F, Icaro Cornaglia A, Tesei P, and Cattaneo V. Ten-year follow-up in a maxillary sinus augmentation using anorganic bovine bone (Bio-Oss). A case report with histomorphometric evaluation. *Clin Oral Implants Res* 2003;14:369-72.
70. Tatakis DN, Promsudthi A, Wikesjö UM. Devices for periodontal regeneration. *Periodontology* 2000, 1999;19:59-73.
71. Sela MN, Babitsky E, Steinberg D, Kohavi D, Rosen G. Degradation of collagen tissue regeneration membranes by proteolytic enzymes of *Porphyromonas gingivalis* and its inhibition by antibacterial agents. *Clin. Oral Impl. Res* 2009; 20:496-502.
72. Cortellini P, Tonetti MS. Clinical performance of a regenerative strategy for intrabony defects: Scientific evidence and clinical experience. *J Periodontol* 2005; 76:341-50.
73. Cortellini P, Prato GP, Tonetti MS. The modified papilla preservation technique. A new surgical approach for interproximal regenerative procedures. *J Periodontol* 1995;66:261-6.
74. Cortellini P, Pini Prato G, Tonetti MS. The modified papilla preservation technique with bioresorbable barrier membranes in the treatment of intrabony defects. Case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1996;16:546-59.
75. Tonetti MS, Cortellini P, Lang NP, Suvan JE, Adriaens P, Dubravec D, Fonzar A, Fourmoussis I, Rasperini G, Rossi R, Silvestri M, Topoll H, Walkkamm B, Zybutz M. Clinical outcomes following treatment of human intrabony defects with GTR/bone replacement material or access flap alone. A multicenter randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2004;31:770-6.
76. Wachtel H, Schenk G, Böhm S, Weng D, Zuhre O, Hürzeler MB. Microsurgical access flap and enamel matrix derivative for the treatment of periodontal intrabony defects: a controlled clinical study. *J Clin Periodontol* 2003;30:496-504.
77. Trombelli L, Farina R, Franceschetti G, Calura G. Single-flap approach with buccal access in periodontal reconstructive procedures. *J Periodontol* 2009;80:353-60.
78. Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley JC. Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8:115-81.
79. Eickholz P, Pretzl B, Holle R, Kim TS. Long-term results of guided tissue regeneration therapy with non-resorbable and bioabsorbable barriers. III. Class II furcations after 10 years. *J Periodontol* 2006;77:88-94.
80. Kim TS, Holle R, Hausmann E, Eickholz P. Long-term results of guided tissue regeneration therapy with non-resorbable and bioabsorbable barriers. II. A case series of intrabony defects. *J Periodontol* 2002;73:450-9.
81. Pretzl B, Kim TS, Steinbrenner H, Dörfer C, Himmer K, Eickholz P. Guided tissue regeneration with bioabsorbable barriers III 10-year results in intrabony defects. *J Clin Periodontol* 2009;36:349-56.
82. Sculean A, Kiss A, Miliauskaitė A, Schwarz F, Arweiler NB, Hannig M. Ten-year results following treatment of intra-bony defects with enamel matrix proteins and guided tissue regeneration. *J Clin Periodontol* 2008;35:817-24.
83. Aichelmann-Reidy ME, Reynolds MA. Predictability of clinical outcomes following regenerative therapy in intrabony defects. *J Periodontol* 2008;79:387-93.
84. Needleman I, Tucker R, Giedrys-Leeper E, Worthington H. Guided tissue regeneration for periodontal intrabony defects— a Cochrane Systematic Review. *Periodontol* 2000; 2005;37:106-23.
85. Cortellini P, Tonetti MS. Long-term tooth survival following regenerative treatment of intrabony defects. *J Periodontol* 2004;75:672-8.

class III furcation remains without scientific evidence. An interesting meta-analysis published in 2008 shows that the medium results of regenerative procedure are probing reduction of 3.21 ± 1.36 mm, CAL gain of 4.37 mm and satisfactory clinical results in II class furcation treatment but without the ability bring back class II furcation in class I in the majority of cases⁸³. In several studies open flap debridement (OFD) was compared to regenerative procedures, Needleman⁸⁴ in 2005 analyzed different randomized clinical trial comparing these techniques. The author showed that regenerative surgeries had statistically better results than OFD in terms of CAL gain, probing reduction and less recession after surgery. A fundamental paper on long term in periodontal regeneration was published by Cortellini &

Tonetti in 2004.⁸⁵ 170 periodontal compromised teeth were analyzed with a medium follow up of 10 years. The percentage of tooth maintained for the complete follow up was 96%, highlighting the possibility to preserve long term seriously periodontal compromise teeth, guaranteeing function and aesthetic for the patients, without the necessity of prosthodontic or implant treatment. In 2011 Silvestri et al.⁴⁸ published a paper on 120 cases treated with different regenerative techniques (EMD and GTR) with a follow up of 13 years. Survival of treated teeth was more than 90% at 13 years and the clinical results obtained after surgery (CAL) were maintained up to 11 years with 82% of success. This paper pointed out that both amelogenins and guided tissue regeneration with resorbable

membrane and deproteinized bovine bone provide positive clinical results that can be maintained during time if the patient respects oral hygiene maintenance program and if the surgeries are performed according to scientific literature guidelines. Non participating in oral professional care protocol and smoking appear to be correlated with worst results and higher risk of tooth loss. In this article bio-materials do not seem to influence the results because surgical therapy and material choosing were done according to defect characteristics. In defect with low radiographic angle and space maintaining shape amelogenins were preferred, in wide defect resorbable membrane with bone grafts were chosen. ■