



ISTISAN CONGRESSI 18 | C1

ISSN: 0393-5620 (cartaceo) • 2384-857X (online)

5° Convegno Nazionale FORM

Forum On Regenerative Methods: materiali e metodiche di rigenerazione tissutale in medicina rigenerativa

Istituto Superiore di Sanità
Roma, 10-11 maggio 2018

RIASSUNTI

A cura di R. Bedini, R. Pecci,
D. Meleo, P. Meli e A. Scarano



ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

5° Convegno Nazionale FORM

**Forum On Regenerative Methods:
materiali e metodiche di rigenerazione tissutale
in medicina rigenerativa**

Istituto Superiore di Sanità
Roma, 10-11 maggio 2018

RIASSUNTI

A cura di
Rossella Bedini (a), Raffaella Pecci (a),
Deborah Meleo (b), Paola Meli (a) e Antonio Scarano (c)

*(a) Centro Nazionale di Tecnologie Innovative in Sanità Pubblica,
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) Odontoiatra, Libero Professionista, Roma

*(c) Dipartimento di Scienze Mediche Orali e Biotecnologie,
Facoltà Medicina e Chirurgia,*

Università G.D'Annunzio, Chieti e Pescara, Chieti

ISSN 0393-5620
ISTISAN Congressi
18/C1

Istituto Superiore di Sanità

5° Convegno Nazionale FORM. Forum On Regenerative Methods: materiali e metodiche di rigenerazione tissutale in medicina rigenerativa. Roma, 10-11 maggio 2018. Riassunti.

A cura di Rossella Bedini, Raffaella Pecci, Deborah Meleo, Paola Meli e Antonio Scarano
2018, vii, 37 p. ISTISAN Congressi 18/C1

Il FORM (*Forum On Regenerative Methods*) è un forum di studi scientifici che da anni vengono svolti dall'Istituto Superiore di Sanità in collaborazione con diverse Università nazionali e finalizzato alla promozione di programmi di ricerca nell'ambito delle metodiche utilizzate in medicina rigenerativa nel settore odontostomatologico ed ortopedico. Questo forum di studi ha l'obiettivo di contribuire a disciplinare, regolamentare, ampliare e diffondere l'utilizzo di materiali e metodiche affidabili e sicure da impiegare nel campo della rigenerazione tissutale in medicina rigenerativa per cercare di migliorare le sue applicazioni in campo odontostomatologico e ortopedico. Il Convegno ha lo scopo di informare e di ampliare la diffusione e la valutazione delle applicazioni di metodiche rigenerative possibili ed affidabili in ambito clinico, di promuovere lo sviluppo di metodiche rigenerative innovative, al fine del miglioramento dell'assistenza nei confronti dei pazienti del Servizio Sanitario Nazionale.

Parole chiave: Medicina rigenerativa, Biomateriali, Ingegneria tissutale, Aspetti medico-legali

Istituto Superiore di Sanità

5th National FORM Conference. Forum On Regenerative Methods: materials and methods of tissue regeneration in regenerative medicine. Rome, May 10-11, 2018. Abstract book.

Edited by Rossella Bedini, Raffaella Pecci, Deborah Meleo, Paola Meli and Antonio Scarano
2018, vii, 37 p. ISTISAN Congressi 18/C1 (in Italian)

FORM (Forum On Regenerative Methods) is a scientific-based forum, developed inside the Istituto Superiore di Sanità, which has been carrying on several different studies throughout the years. These studies have been brought out in partnership with many of our National Universities, and its aim is to promote research programs concerning Regenerative Medicine Methods, specifically used in orthopedics and odontostomatology. The FORM main objective is to contribute in regulating, supervising and promoting the use of reliable and safe materials and methods, about tissue regeneration in regenerative medicine, trying to improve its applications in odontostomatology and orthopedics. The annual meeting has the purpose of spreading out information and support an increment in the distribution and evaluation of reliable and acceptable regenerative methods in clinical environment. Furthermore, it also promotes the development of innovative methods of regeneration, in order to provide NHS patients with a better and improved service of assistance.

Key words: Regenerative medicine, Biomaterials, Tissue engineering, Medico-legal aspects

Responsabile scientifico: Rossella Bedini

Per informazioni su questo documento scrivere a: rossella.bedini@iss.it

Il Rapporto è disponibile online sul sito di questo Istituto: www.iss.it

Citare questo documento come segue:

Bedini R, Pecci R, Meleo D, Meli P, Scarano A (Ed.). *5° Convegno Nazionale FORM. Forum On Regenerative Methods: materiali e metodiche di rigenerazione tissutale in medicina rigenerativa. Roma, 10-11 maggio 2018. Riassunti.* Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2018 (ISTISAN Congressi 18/C1).

Legale rappresentante dell'Istituto Superiore di Sanità: *Gualtiero Ricciardi*

Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 119 del 16/5/2014 (cartaceo) e n. 120 del 16/5/2014 (online)

Direttore Responsabile della serie: *Paola De Castro*

Redazione: *Paola De Castro e Patrizia Mochi*

La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori, che dichiarano di non avere conflitti di interesse.

© Istituto Superiore di Sanità 2018

Viale Regina Elena, 299 – 00161 Roma



INDICE

Programma	iii
Premessa	vii
Prima sessione	
Il punto di vista normativo ed etico	1
Seconda sessione	
Materiali e metodiche per la rigenerazione tissutale in medicina rigenerativa	9
Terza sessione	
Metodiche per la rigenerazione tissutale in medicina rigenerativa odontostomatologica	19
Quarta sessione	
Metodiche per la rigenerazione tissutale in medicina rigenerativa ortopedica	31
Indice degli autori	37

PROGRAMMA

Giovedì 10 maggio 2018

- 8.30 Registrazione dei partecipanti
- 9.00 Saluto di benvenuto ed apertura dei lavori
Rossella Bedini
- 9.10 Introduzione al Convegno
Mauro Grigioni
Direttore del Centro Nazionale TISP

Prima sessione

IL PUNTO DI VISTA NORMATIVO ED ETICO

Moderatore: Raffaella Pecci

- 9.30 *Rigenerazione tissutale e dispositivi medici*
Carla Daniele
- 9.50 *Aspetti regolatori e scientifici per lo sviluppo di medicinali per terapie avanzate*
Maria Cristina Galli
- 10.10 *L'insuccesso: tra Etica e Medicina Legale*
Maria Sofia Rini
- 10.30 *Considerazioni etico deontologiche nella indicazione al trattamento rigenerativo*
Paola Meli

Seconda sessione

MATERIALI E METODICHE PER LA RIGENERAZIONE TISSUTALE IN MEDICINA RIGENERATIVA

Moderatore: Rossella Bedini

- 10.50 *Modellazione e Stampa 3D in medicina: come la tecnologia 3D ha contribuito al successo della separazione chirurgica di due gemelle siamesi toracopaghe*
Luca Borro

- 11.00 Intervallo
- 12.00 *Stampa 3D in chirurgia maxillo-facciale: valutazione di accuratezza mediante analisi microtomo grafica*
Ilaria Campioni
- 12.20 *Microfluidics & 3D-Printing: nuove frontiere della bio-fabbricazione digitale*
Cristina Colosi
- 12.40 *Rigenerazione ossea personalizzata per bambini mediante Rapid Maxillary Expansion: uno studio di microtomografia basato sulla radiazione di sincrotrone*
Alessandra Giuliani
- 13.00 Pausa pranzo
- 14.30 *Le human-periapical cyst-mesenchymal stem cells: dalla waste medicine al cell-model per le patologie neurodegenerative*
Marco Tatullo
- 14.50 *Scaffold ibrido a base di idrossiapatite bovina, poliesteri alifatici e collagene denaturato per rigenerazione ossea: uno studio istologico*
Gianni Pertici
- 15.10 *Metodiche di rigenerazione tissutale nella fabbricazione di dispositivi medici per il sistema cardiovascolare*
Giuseppe D'Avenio
- 15.30 *Membrane elettrofilate come piattaforme innovative per la medicina rigenerativa*
Ilaria Cacciotti
- 15.50 Discussione
- 16.00 Chiusura della giornata

Seconda sessione

Venerdì 11 maggio 2018

Terza sessione

**METODICHE PER LA RIGENERAZIONE TISSUTALE
IN MEDICINA RIGENERATIVA ODONTOSTOMATOLOGICA**

Moderatore: Deborah Meleo

- 9.15 *Consuntivo della prima giornata*
Rossella Bedini
- 9.20 *Gestione delle comunicazioni oro-sinusali
attraverso l'uso di biomateriali*
Michele Antonio Lopez
- 9.40 *CGF e biomateriali; sinergia tra autologo e eterologo*
Massimiliano Marchetti
- 10.00 *Aumenti di cresta orizzontali e verticali con Bone Ring eterologhi e CGF.*
Ezio Gheno
- 10.20 *Ricostruire flapless con biomateriali, spostare il limite oltre dubbi e pregiudizi*
Andrea Grassi
- 10.40 *Il fosfato tricalcico nella rigenerazione ossea*
Mauro Maragno
- 11.00 Intervallo
- 12.00 *Utilizzo di dentina autogena in chirurgia rigenerativa parodontale:
valutazione in vitro sulla risposta bio-morfologica dei fibroblasti
del legamento parodontale*
Enrico Marchetti
- 12.20 *Rigenerazione tissutale semplificata e predicibile mediante mix fibrina
sigillante/osso collagenato*
Vincenzo Foti
- 12.40 *Nanomateriali e cellule staminali per la rigenerazione dei tessuti dentali*
Giovanna Orsini
- 13.00 Pausa pranzo
- 14.30 *Valutazione della rete vascolare nell'osso creatale atrofico mediante
Microtomografia con Radiazione di Sincrotrone.
Fondamenti per una variante alla tecnica chirurgica convenzionale*
Tonino Traini

Quarta sessione

METODICHE PER LA RIGENERAZIONE TISSUTALE IN MEDICINA RIGENERATIVA ORTOPEDICA

Moderatore: Paola Meli

- 14.50 *L'uso delle cellule staminali in ortopedia*
Fabrizio Di Feo
- 15.30 *Parabiosi eterocronica: è possibile interrompere il processo di degenerazione discale? Studio sperimentale in vivo*
Debora Colangelo
- 16.00 Discussione e chiusura del Convegno

PREMESSA

Il 10 e 11 maggio, nell'aula Pocchiari dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS), si svolgerà il Quinto Convegno Nazionale (FORM 2018) sui materiali e sulle metodiche di rigenerazione tissutale in medicina rigenerativa sia nel settore odontostomatologico che ortopedico, nell'ambito di Accordi di studi e di ricerche svolte da diversi gruppi di Enti di ricerca, universitari, ospedalieri e privati italiani in collaborazione con l'ISS.

Il FORM (*Forum On Regenerative Methods*) è un Forum di studi scientifici che da diversi anni è stato sviluppato dall'ISS in collaborazione con diverse Università Nazionali e finalizzato alla promozione di programmi di ricerca nell'ambito delle metodiche utilizzate in medicina rigenerativa nel settore odontostomatologico ed ortopedico. Tale Forum di studi si prefigge, negli anni, di contribuire a disciplinare, regolamentare, ampliare e diffondere, in ambito sanitario pubblico, l'utilizzo di materiali e di metodiche affidabili e sicure da utilizzare per la rigenerazione tissutale al fine di ottimizzare le sue applicazioni in campo odontostomatologico ed ortopedico.

L'evento del 10 e 11 maggio vuole rappresentare un momento informativo e di confronto per tutti gli operatori del settore e costituire un supporto al miglioramento dell'assistenza nei confronti dei pazienti del Servizio Sanitario Nazionale.

Gli scopi e gli obiettivi del Convegno saranno quelli di ampliare la diffusione e la valutazione delle applicazioni di metodiche rigenerative possibili ed affidabili in ambito clinico, di fornire informazioni e promuovere lo sviluppo delle stesse ed anche essere un momento di informazione sulla situazione delle applicazioni di metodiche rigenerative per la riparazione e la ricrescita tissutale sia *in vitro* sia *in vivo*.

In questo Convegno, che si articolerà in quattro sessioni, sarà valutato sia l'uso di dispositivi medici che il punto di vista normativo per lo sviluppo di medicinali per la rigenerazione tissutale unitamente agli aspetti medico-legali ed etici da tenere in considerazione sia nell'uso dei materiali sia nell'applicazione delle metodiche per la rigenerazione tissutale nei settori odontostomatologici ed ortopedici.

Nella seconda sessione verranno invece mostrati l'utilizzo delle nuove tecnologie di stampa 3D (tridimensionale) in medicina rigenerativa e l'applicazione di biomateriali, cellule, dispositivi medici e metodiche per la rigenerazione tissutale in medicina rigenerativa.

Nella terza sessione (seconda giornata) del Convegno, verranno mostrati contributi riguardanti le applicazioni cliniche di rigenerazione tissutale molto diffuse in odontostomatologia che vengono utilizzate sia in ambito pubblico sia in quello privato per un costruttivo confronto tra gli operatori del settore. Nella quarta sessione, infine, saranno presentati interventi riguardanti applicazioni di metodiche innovative per la rigenerazione tissutale in medicina rigenerativa ortopedica.

Per la divulgazione e consultazione delle attività del FORM è stato pubblicato anche un sito al seguente indirizzo: <http://www.iss.it/formdental/>

Rossella Bedini, Raffaella Pecci

Prima sessione

Il punto di vista normativo ed etico

Moderatore

Raffaella Pecci

RIGENERAZIONE TISSUTALE E DISPOSITIVI MEDICI

Carla Daniele

Centro Nazionale Tecnologie Innovative in Sanità Pubblica, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Nella medicina rigenerativa sono ampiamente utilizzati i biomateriali impiegati come *scaffold*, ossia come impalcature per le cellule essendo supporti tridimensionali in grado di favorire l'adesione e la proliferazione cellulare fino alla formazione del nuovo tessuto. Uno "scaffold-biomateriale" è, quindi, un materiale progettato per ripristinare, mantenere o migliorare le funzioni biologiche ed interagire con i sistemi biologici provocando una risposta dell'organismo in cui si trova ad operare. Ovviamente ogni biomateriale ha delle proprie caratteristiche; esistono *scaffold* prodotti a partire da polimeri di sintesi o naturali (es. di origine animale). Essi sono progettati tenendo conto di numerosi requisiti tecnici; il primo requisito essenziale è la biocompatibilità, in quanto il biomateriale deve essere ben tollerato dall'organismo ospite, determinando una risposta opportuna in relazione all'applicazione da parte di quest'ultimo. Molti *scaffold* utilizzati in medicina rigenerativa sono dispositivi medici e sono regolati dalle disposizioni relative a questo settore. Nel quadro regolatorio europeo dei dispositivi medici c'è stata una evoluzione con l'entrata in vigore il 25 maggio 2017 del Regolamento 2017/745 che prevede l'abrogazione della direttiva 93/42/CEE (dispositivi medici) a decorrere dal 26 maggio 2020 e che ha introdotto rilevanti novità in questo settore.

ASPETTI REGOLATORI E SCIENTIFICI PER LO SVILUPPO DI MEDICINALI PER TERAPIE AVANZATE

Maria Cristina Galli

Centro Nazionale per la Valutazione e il Controllo dei Farmaci, Istituto Superiore di Sanità, Roma

I medicinali per terapie avanzate (*Advanced Therapy Medicinal Product, ATMP*) rappresentano ormai una realtà significativa in medicina rigenerativa e nel panorama farmaceutico, non solo europeo, e offrono ai pazienti importanti opportunità di trattamento per malattie invalidanti o senza adeguate terapie.

Questi recenti successi sono stati possibili grazie a un forte incremento della ricerca sia preclinica sia clinica.

Lo sviluppo degli ATMP pone parecchi problemi che sono legati alla loro specifica natura, come per esempio la complessità della popolazione cellulare, il modello animale per gli studi preclinici, la capacità di proliferare *in vivo*, di aderire ai tessuti o di migrare verso una nicchia specifica, nonché legati agli aspetti di sicurezza concernenti per esempio il potenziale tumorigenico oppure l'espressione o proliferazione disregolate. Anche nel protocollo clinico ci sono aspetti critici, come il disegno dello studio, la scelta degli *endpoints* e di appropriati biomarcatori.

Le strategie di sviluppo degli ATMP devono prendere in considerazione fin dall'inizio i requisiti regolatori applicabili, per non subire ritardi che impedirebbero ai pazienti di beneficiare dell'alto potenziale espresso da questo tipo di farmaci.

In questa presentazione verrà discusso come ottimizzare lo sviluppo degli ATMP alla luce dei requisiti scientifici e regolatori, per accelerare il passaggio dalla fase di ricerca a quella di applicazione clinica.

L'INSUCCESSO: TRA ETICA E MEDICINA LEGALE

Maria Sofia Rini

Università degli Studi, Bologna; Università degli Studi G. Marconi, Roma

“Chi non fa non falla”. Nel contesto di una corretta attività chirurgico rigenerativa e ricostruttiva in medicina e in odontoiatria non è possibile escludere la possibilità di insuccessi, vuoi per motivi tecnici, vuoi per motivi biologici. Non necessariamente il concetto di insuccesso implica quello di errore. Nell'attività di ricerca e in quella clinica quotidiana, risultano importanti sia la conoscenza tecnica che la pianificazione dei programmi esecutivi e degli elementi diagnostici atti ad individuare l'appropriatezza ed i limiti degli interventi. La possibilità di insuccesso rappresenta un evento possibile, prevedibile o meno, prevenibile o meno, ma non necessariamente legato a condotte inidonee.

Al clinico ed al ricercatore, tuttavia, indipendentemente dall'eventuale riconoscimento di errori o di condotte inidonee, si richiede la capacità di razionalizzare l'evento negativo, di individuarne le cause e gestirne gli esiti negativi, qualora possibile.

La gestione dell'insuccesso è uno degli elementi di valutazione della condotta professionale, troppo spesso considerato di secondaria importanza. È un onere accessorio che di fatto condiziona la percezione che dell'evento negativo ha il paziente. Paziente che di fatto è colui che usufruisce dei vantaggi offerti dal progredire delle tecnologie, delle metodiche e delle più avanzate scoperte medico-scientifiche e che troppo spesso crede nell'infallibilità di queste ultime.

Uno dei problemi che l'etica e la medicina legale si pongono, pertanto, riguarda il contenuto e le modalità di trasmissione del preliminare messaggio informativo, tanto più a fronte di interventi tecnologicamente avanzati e allo stato dei fatti ancora privi di lunghi *background* di consistente portata. La ricerca scientifica oggi vola, i tempi si stringono vorticosamente e si confrontano, troppo spesso, oggetti e metodiche che rappresentano qualcosa di completamente diverso, il cui impatto *in vivo* non esclude in senso assoluto incertezze, insuccessi e problemi. In ambito clinico una condotta professionale eticamente corretta deve riuscire a trasmettere al paziente, al momento della scelta e della condivisione delle terapie, tale informativa.

Gli esiti di ciascun atto devono potersi rapportare a scelte adeguate, a indicazioni precise, a segni e sintomi, individuati ed individuabili, e a condotte operative tecnicamente corrette. Elementi che permettono di identificare le responsabilità del professionista. Responsabilità da *respondere*, farsi carico, concetto positivo, che nel contesto del rapporto medico/odontoiatra/paziente deve supportare la presa incarico del bene salute.

Una chiara individuazione di ruoli, di reciproche obbligazioni, di possibili problematiche ed effetti indesiderati, modula le aspettative e crea le premesse per un valido scambio informativo, che formerà l'oggetto del contratto di cura stesso. Informativa che gioca un ruolo essenziale nella costruzione delle aspettative di risultati, oggi troppo spesso fuorviate da messaggi illusori e miracolistici, eticamente dubbiosi, poco aderenti alle concrete possibilità ed al caso di specie. Non di rado il contenzioso

medico/paziente, odontoiatra/paziente nasce spesso nel contesto di interventi ad alto contenuto tecnologico, dove incomprensioni, false illusioni o messaggi non sempre scientificamente o eticamente corretti aprono la via a facili recriminazioni.

CONSIDERAZIONI ETICO DEONTOLOGICHE NELLA INDICAZIONE AL TRATTAMENTO RIGENERATIVO

Paola Meli

*Centro Nazionale Tecnologie Innovative in Sanità Pubblica, Istituto Superiore di Sanità,
Roma*

Nel 1984 Eugene Bell del MIT (*Massachusetts Institute of Technology*) conia il termine *tissue engineering*; il biologo, imprenditore e filantropo William A. Haseltine utilizza, nel 1999, l'espressione medicina rigenerativa, introdotta nel 1992 da Leland Kaiser, per raggruppare le tecnologie (dalla terapia genica alla terapia con staminali, all'ingegneria tissutale, alla protesica biomeccanica) che hanno il comune obiettivo di ripristinare la funzione normale di organi, tessuti e cellule danneggiati da traumi, malattie e o consumati dal tempo. Da allora si è assistito ad una rapida progressione biotecnologica della scienza medica che negli ultimi decenni ha determinato un rapido ed imprevedibile avanzamento delle possibilità di diagnosi e terapia.

Le speranze riposte nella medicina rigenerativa sono tante, ma è necessaria molta prudenza per tradurre queste speranze in terapie concrete e sicure per i pazienti.

In alcuni ambiti la disponibilità di procedure diagnostiche terapeutiche innovative quali quelle offerte dalla rigenerazione tissutale può indurre il paziente/cliente a ricorrere a prestazioni *low cost* i cui risultati possono non essere soddisfacenti.

Le tecnologie rigenerative pur coinvolgendo figure professionali molteplici, pongono il medico nella condizione di optare per un trattamento tradizionale piuttosto che l'innovativo-rigenerativo esercitando il diritto della libertà diagnostico-prescrittivo-terapeutica considerando che le procedure ed i prodotti di medicina rigenerativa, utilizzabili nella clinica, sono molti e il loro uso è regolamentato da direttive Europee, leggi, linee guida che si basano su elementi giuridici e regolatori che devono essere conosciuti e seguiti. Uno tra tutti il consenso informato che assume una valenza particolare.

La libertà diagnostico-prescrittivo-terapeutica e la libertà di ricerca scientifica devono coniugarsi con la responsabilità professionale, con l'equità, il rigore, l'affidabilità e l'obiettività nella conduzione della stessa.

Il rispetto delle linee guida, dei codici deontologici, dei principi e dei valori etici, sui quali si fonda una condotta responsabile e corretta, diventano pilastro insostituibile per garantire l'integrità nella ricerca e la qualità delle cure, soprattutto in settori in cui l'informazione spesso giunge al paziente/cliente, prima ancora che siano disponibili risultati basati su dati scientifici consistenti e validati.

Seconda sessione
**Materiali e metodiche per la rigenerazione tissutale
in medicina rigenerativa**

Moderatore
Rossella Bedini

MODELLAZIONE E STAMPA 3D IN MEDICINA: COME LA TECNOLOGIA 3D HA CONTRIBUITO AL SUCCESSO DELLA SEPARAZIONE CHIRURGICA DI DUE GEMELLE SIAMESI TORACOPAGHE

Luca Borro

Unità di Innovazione e Percorsi Clinici, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

L'utilizzo delle tecnologie 3D in medicina ha suscitato negli ultimi anni un crescente interesse tra medici e operatori sanitari. Le scienze tecnologiche si fondono con la medicina per offrire un sempre più alto livello di assistenza all'avanguardia per il paziente.

La stampa 3D è un processo di produzione additiva che consente di ottenere importanti ricostruzioni anatomiche specifiche derivanti da immagini radiologiche. Tali ricostruzioni consentono di aumentare la sicurezza di interventi chirurgici complessi e di pianificare tali interventi con anticipo studiando il caso clinico nel dettaglio in fase pre-operatoria.

All'interno dell'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma da due anni si lavora quotidianamente con l'utilizzo della tecnologia 3D. Questo ha consentito di ottenere importanti risultati sull'aumento dell'efficienza di alcuni specifici settori chirurgici e ha consentito di aprire un filone di ricerca importante sul quale ci si concentrerà concretamente anche nei prossimi anni.

Proprio all'interno dell'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma la modellazione e la stampa 3D sono stati usati con successo per affrontare un caso chirurgico complesso quale quello della separazione chirurgica di due gemelle siamesi toracopaghe.

Le due pazienti, unite per il torace, avevano in comune il fegato, il pericardio e lo sterno. L'anatomia complessa di questo particolare caso clinico ha richiesto l'utilizzo della tecnologia di stampa 3D per ottenere diverse repliche anatomiche tramite l'unione di dati tomografici (ottenuti con la TAC, Tomografia Assiale Computerizzata) e di dati ottenuti con risonanza magnetica nucleare, esami diagnostici cui sono state sottoposte le pazienti. Sono stati ottenuti modelli di stampa 3D per la riproduzione dell'intero distretto osseo toracico, del fegato con relativa vascolarizzazione intraparenchimale e dell'intero corpo delle pazienti con all'interno tutti i distretti anatomici interessati dall'atto chirurgico.

La stampa 3D ha consentito di ottenere un modello completo costituito da un involucro in resina trasparente e da distretti anatomici interni riprodotti in resine colorate. Tale modello, insieme al modello stampato del solo fegato, hanno consentito di simulare la resezione chirurgica con perfetto dettaglio e sono stati utilizzati durante tutte le riunioni preparatorie all'intervento.

L'utilizzo di tali modelli predittivi ha consentito di ridurre i tempi operatori del 50% rispetto alle tempistiche attese.

Oltre alla stampa 3D è stata utilizzata la modellazione 3D virtuale per ricostruire dettagliatamente la cavità toracica delle pazienti e condurre studi di simulazione dei movimenti di chiusura della gabbia toracica successivamente all'attività chirurgica di preparazione nonché della stima di volume toracico residuo post chirurgico.

STAMPA 3D IN CHIRURGIA MAXILLO FACCIALE: VALUTAZIONE DI ACCURATEZZA MEDIANTE ANALISI MICROTOMOGRAFICA

Ilaria Campioni (a), Ilaria Cacciotti (a), Nikhil Gupta (b)

(a) *Dipartimento di Ingegneria, Università degli Studi Niccolò Cusano, Roma*

(b) *Dipartimento di Ingegneria Meccanica ed Aerospaziale, New York University Tandon School of Engineering, Brooklyn, New York, USA*

L'utilizzo della manifattura additiva o più comunemente indicata stampa 3D in ambito medicale rappresenta una metodologia promettente, dai risvolti economici elevati e che però necessita di maggiore approfondimento da diversi punti di vista e in particolare per ciò che riguarda la qualità e i rischi connessi con i processi che la caratterizzano. Uno degli ambiti medicali in cui l'utilizzo della stampa 3D è maggiormente diffuso è nell'ambito della chirurgia maxillofacciale e della medicina rigenerativa, al fine di realizzare soluzioni specifiche per il paziente e nelle fasi pre-impianto per la definizione delle modalità di intervento. Anche dal punto di vista regolatorio, il quadro è in definizione. Recentemente la *Food and Drug Administration* ha emanato una linea guida specifica indirizzata ai fabbricanti di dispositivi realizzati mediante manifattura additiva e nella quale si evidenzia l'importanza di controllare i processi di stampa e la verifica del prodotto finito. L'analisi microtomografica (micro-CT) è a tal fine indicata come tecnica utile di riferimento per la valutazione non distruttiva del prodotto stampato.

Nell'ambito di uno studio svolto presso la New York University Tandon School of Engineering, è stata valutata l'applicazione di alcuni sistemi di manifattura additiva di tipo *Polyjet* ed *FDM (Fusion Deposition Modeling)* per la realizzazione di prototipi di dispositivi di fissaggio per osteosintesi cranio-maxillo facciali e mandibolari, applicando la microtomografia come metodologia di indagine. Sono stati valutati gli effetti dovuti all'utilizzo di diversi parametri di stampa, tra cui la direzione di stampa e la risoluzione del file *STL (Stereolithography)* utilizzato, considerando alcuni materiali commerciali per la prototipazione. La presenza di difetti interni e l'accuratezza dimensionale dei campioni realizzati rispetto al disegno *CAD (Computer Aided Design)* progettato è stata esaminata mediante la micro-CT. Lo studio pone le basi per la definizione di protocolli di verifica della qualità dei prodotti stampati di fondamentale importanza per garantire la sicurezza e l'eventuale reale impiego nell'ambito del Sistema Sanitario Nazionale.

MICROFLUIDICS & 3D-PRINTING: NUOVE FRONTIERE DELLA BIO-FABBRICAZIONE DIGITALE

Cristina Colosi

Bioprinting Facility, CLNS, Center for Life Nano Science, Istituto Italiano di Tecnologia, Roma

La stampa tridimensionale biologica (3D Bio-printing) è una tecnologia emergente nell'ambito della bio-ingegneria che nasce dall'intersezione fra il 3D-printing e le metodiche di incapsulamento cellulare. Il campo di applicazione di questa tecnologia è quello dell'ingegneria tissutale, sia per creazione di modelli *in vitro* di organi e tessuti che per applicazioni di medicina rigenerativa. Lo scopo del 3D Bio-printing è quello di creare tessuti artificiali tridimensionali utilizzando macchine a controllo numerico (fabbricazione digitale), grazie alle quali è possibile disegnare a priori la struttura macroscopica e microscopica del costruito vivente. Il processo di fabbricazione prevede la deposizione di materiale biologico nelle tre dimensioni secondo modelli tridimensionali disegnati al computer. Il bio-ink è costituito da cellule viventi e componenti della matrice extracellulare in soluzione o sotto forma di gel.

Lo sviluppo di metodologie di deposizione 3D biocompatibili e adatte a disegnare con elevata risoluzione strutture tissutali è oggetto di molti studi di ricerca. Il successo del 3D-Bioprinting, infatti, prevede l'ottimizzazione del processo di stampa, in termini di risoluzione, e del processo di maturazione del tessuto, determinato dalla bioattività dei materiali usati per mimare la matrice extracellulare nei confronti della tipologia di cellule stampate.

Al Center for Life Nano Science dell'Istituto Italiano di Tecnologia stiamo sviluppando una metodica di 3D-Bioprinting basata sull'accoppiamento fra sistemi microfluidici e di estrusione di fibre di idrogel e cellule viventi. L'utilizzo di piattaforme microfluidiche associate alle testine di deposizione 3D permette di controllare in maniera fine la composizione e l'architettura tissutale dei bio-costrutti. Grazie a tale accoppiamento è possibile modificare in maniera programmata la tipologia di materiale inviato al sistema di estrusione e la densità di cellule incapsulate: ciò permette una rapida ottimizzazione dei parametri di stampa e la facile creazione di tessuti eterogenei. Il flusso laminare instaurato all'interno dei micro-canali viene sfruttato per disporre diverse tipologie di cellule e materiali secondo strutture funzionali predeterminate, così da creare modelli multicellulari complessi ed altamente riproducibili. In maniera speculare, l'applicazione delle tecniche di stampa 3D convenzionali sta rivoluzionando il modo in cui vengono costruite le piattaforme microfluidiche, in cui i classici processi multi-step litografici vengono sostituiti da metodi di fabbricazione digitale e prototipazione rapida. Questa convergenza facilita e accelera lo sviluppo delle tecnologie di bio-fabbricazione digitale e rende sempre più vicino il traguardo di creare tessuti umani funzionali *in vitro*.

RIGENERAZIONE OSSEA PERSONALIZZATA PER BAMBINI MEDIANTE *RAPID MAXILLARY EXPANSION*: UNO STUDIO DI MICROTOMOGRAFIA BASATO SULLA RADIAZIONE DI SINCROTRONE

Alessandra Giuliani

Sezione di Biochimica, Biologia e Fisica Applicata, Dipartimento di Scienze Cliniche Specialistiche e Odontostomatologiche, Università Politecnica delle Marche, Ancona

La procedura di espansione mascellare personalizzata è stata proposta per correggere il *deficit* trasversale mascellare, sezionando la sutura mediopalatina e stimolando la crescita cellulare orientata alla osteo-rigenerazione. In letteratura, diversi protocolli di attivazione delle cellule staminali endogene sono stati nel tempo suggeriti, ma la *Rapid Maxillary Expansion* (RME) è ad oggi la più diffusa in campo clinico. Il presente studio mira a quantificare, a livello tridimensionale (3D), la cinetica di osteo-rigenerazione della sutura mediopalatina nei bambini sottoposti a RME.

Tre pazienti (età media $8,3\pm 0,9$ anni) sono stati arruolati nello studio, con prelievo biptico della sutura. Due pazienti (soggetti 1 e 2) sono stati sottoposti a RME prima della biopsia. Il terzo paziente non ha avuto bisogno del trattamento di espansione mascellare ed è stato arruolato come controllo (soggetto 3). Campioni di sutura mediopalatina sono stati raccolti 7 giorni dopo RME nel soggetto 1 e 30 giorni dopo RME nel soggetto 2. Tutte le biopsie sono state valutate mediante tecniche di *imaging* complementari, vale a dire mediante microtomografia basata sulla radiazione di sincrotrone (microCT) e microscopia ottica ed elettronica comparativa.

In accordo con la microscopia, tramite microCT sono state misurate quantità rilevanti di osso neoformato sia a 7 giorni che a 30 giorni dopo la RME, con crescita ossea e progressiva mineralizzazione, anche se ancora di fase immatura rispetto al controllo.

In sintesi, i dati morfometrici, come ricavati dall'analisi di microCT e dalla microscopia bidimensionale (2D), convergono nel confermare il progressivo processo di guarigione, attivato dalle cellule staminali endogene, e la mineralizzazione della struttura ossea trabecolare. Al contrario, la natura tridimensionale delle immagini di microCT ha permesso di smentire che le nuove trabecole fossero orientate perpendicolarmente all'asse longitudinale della sutura, come dedotto precedentemente tramite microscopia 2D.

LE HUMAN-PERIAPICAL CYST-MESENCHYMAL STEM CELLS: DALLA "WASTE MEDICINE" AL CELL-MODEL PER LE PATOLOGIE NEURODEGENERATIVE

Marco Tatullo

Sezione di Biomedicina e Medicina Rigenerativa, Tecnologica Research Institute, Crotona

La ricerca di nuovi siti biologici, facilmente accessibili, privi di morbilità per il paziente, ricchi di cellule staminali, è una delle sfide più entusiasmanti della medicina rigenerativa. I tessuti duri e molli che circondano le strutture dentali, in caso di una infezione del tessuto pulpare, sono generalmente stimolati da fenomeni flogistici che esitano per chemiotassi nell'*homing* di numerose cellule circolanti, attivando altresì le cellule residenti, sino a formare preliminarmente una condizione nota come granuloma periapicale; questa condizione patologica, se non trattata, può portare allo sviluppo di una neoformazione di tipo cistico, denominata cisti infiammatoria periapicale. Nel 2013, nell'articolo *Cells Isolated from Human Periapical Cysts Express Mesenchymal Stem Cell-like Properties* si descrivono per la prima volta le cellule staminali mesenchimali da cisti dentali umane, le *human-Periapical Cyst-Mesenchymal Stem Cells* (hPCy-MSCs).

Diversi studi sono stati condotti su queste nuove MSC, finalizzati a valutarne le caratteristiche morfologiche e fenotipiche, ma anche mettendole a confronto con le ben note cellule staminali da polpa dentale (*Dental Pulp Stem Cells*, DPSCs). Il potenziale delle hPCy-MSCs è stato valutato su differenti tipi di *scaffolds*, con differenti funzionalizzazioni, inoltre, si sono analizzate le risposte delle cellule a differenti stimoli differenziativi. La possibilità di ottenere cellule staminali mesenchimali da un "rifiuto biologico" ci mette nelle condizioni di sfruttare davvero una fonte "alternativa" a costo biologico pari a zero. Ad oggi, le fonti più comuni di cellule staminali adulte sono state identificate tipicamente nel midollo osseo, nel tessuto adiposo e recentemente nei tessuti intra-orali come la polpa dentale o la papilla dentale; tuttavia, tutte queste strutture biologiche sono assolutamente vitali e la loro rimozione richiede un "costo biologico", sebbene limitato e spesso accettabile. Le hPCy-MSC sono l'alternativa che abbraccia completamente il concetto moderno di *waste medicine*: possiamo ottenere così la rigenerazione di qualsiasi tessuto biologico, con particolare attenzione al differenziamento osteogenico e neurogenico, campi su cui le hPCy-MSCs hanno mostrato uno spiccato *commitment* ed hanno creato interessanti prospettive per il loro utilizzo nelle patologie neurodegenerative.

SCAFFOLD IBRIDO A BASE DI IDROSSIAPATITE BOVINA, POLIESTERI ALIFATICI E COLLAGENE DENATURATO PER RIGENERAZIONE OSSEA: UNO STUDIO ISTOLOGICO

Gianni Pertici, (a, b), Delfo D'Alessandro (c), Serena Danti (c, d, e), Mario Milazzo (d), Giuseppe Perale (a, b)

(a) *Dipartimento di Tecnologie Innovative, Scuola Universitaria Professionale della Svizzera italiana, Manno, Svizzera*

(b) *IBI S.A., Industrie Biomediche Insubri S.A. Industrie Biomediche Insubri SA, Mezzovico-Vira, Svizzera*

(c) *Dipartimento di Patologia Chirurgica, Medica, Molecolare e dell'Area Critica, Università degli Studi, Pisa*

(d) *Istituto di Biorobotica, Scuola Superiore Sant'Anna, Pontedera, Pisa*

(e) *Dipartimento di Ingegneria Civile e Industriale, Università degli Studi, Pisa*

Lo *scaffold* ideale per la rigenerazione ossea deve essere altamente poroso, non immunogenico, osteoconduttivo, biorisorbibile ma sufficientemente stabile fino alla formazione di neo-tessuto osseo. Questo studio ha avuto come obiettivo quello di indagare, attraverso l'analisi istologica, il processo di neoformazione ossea in pazienti trattati con SmartBone granulare a seguito di interventi di aumento del seno mascellare. Sono state raccolte cinque biopsie in un intervallo da 4 a 9 mesi dopo l'impianto dello *scaffold*; successivamente sono state processate per analisi istochimica ed immunoistochimica, ed infine analisi istomorfometrica. Il *Bone-particle conductivity index* (BPCi) è stato utilizzato per valutare l'osteoconduttività dello *scaffold*. A 4 mesi, erano presenti sia lo *scaffold* (12%), che nuova matrice ossea (43,9%), entrambi circondati da tessuto connettivo vascolarizzato (37,2%). È stata evidenziata che la generazione di nuovo osso è in contatto con lo *scaffold* (BPCi=0,22). A 6 mesi, SmartBone risultava quasi completamente riassorbito (0,5%) e il nuovo osso era visibile in maniera massiccia (80,8%). A 7 e 9 mesi il neo-osso formato rappresentava una grande porzione volumetrica (rispettivamente 79,3% e 67,4%), mentre il riassorbimento dello *scaffold* è stato pressoché totale (rispettivamente 0,5% e 0%). Si osservavano infatti lamelle ben orientate e cicatrici ossee tipiche dell'osso maturo. In tutte le biopsie, erano presenti biomolecole della matrice ossea ed osteoblasti visibilmente attivi. L'assenza di cellule infiammatorie ha confermato la biocompatibilità e la non-immunogenicità di SmartBone. Questi dati indicano che SmartBone è osteoconduttivo, che promuove una veloce rigenerazione ossea e che porta alla formazione di osso maturo in circa 7 mesi.

METODICHE DI RIGENERAZIONE TISSUTALE NELLA FABBRICAZIONE DI DISPOSITIVI MEDICI PER IL SISTEMA CARDIOVASCOLARE

Giuseppe D'Avenio

*Centro Nazionale Tecnologie Innovative in Sanità Pubblica, Istituto Superiore di Sanità,
Roma*

I Dispositivi Medici (DM) per il sistema cardiovascolare, nonostante siano stati introdotti sul mercato già da molti decenni, sono tuttora associati ad alcuni problemi che ne limitano il pieno successo clinico, in primo luogo la biocompatibilità non ideale (possibilità di rigetto/problemi infiammatori), la possibile tossicità dei materiali di cui è costituito l'impianto, e il comportamento a lungo termine del dispositivo (costanza di prestazioni nel tempo). Nel caso delle valvole cardiache protesiche impiantabili chirurgicamente, il mercato è suddiviso in valvole di tipo meccanico e di tipo biologico, ognuna con particolari caratteristiche sia positive che negative, per cui la scelta della particolare protesi va fatta in relazione ai requisiti del paziente, fermo restando che non esiste ancora la protesi "ideale". Le valvole biologiche, ad esempio, sono spesso oggetto di degradazione strutturale, come ad esempio calcificazione dei lembi. Per contro, non necessitano di un continuo trattamento anticoagulante, a differenza delle valvole di tipo meccanico. Al fine di migliorare le proprietà dei sostituti valvolari protesici attualmente disponibili, si sta assistendo all'intensificarsi dell'applicazione di tecniche di *tissue engineering* per ottenere le TEHV (*Tissue Engineered Heart Valves*). Una TEHV, a differenza delle valvole protesiche precedentemente proposte, è solitamente progettata per avere una risposta fisiologica simile a quanto avviene nelle valvole native. In linea di principio, la biocompatibilità di una TEHV è senz'altro superiore a quella di una valvola protesica tradizionale. Inoltre, una TEHV può in linea di principio rimodellarsi gradualmente, in un paziente che non abbia ancora terminato la fase di sviluppo. Pertanto, tali DM possono adattarsi alle esigenze del portatore in modo migliore rispetto alle protesi valvolari tradizionali.

Un altro contributo promettente offerto dalle metodiche di rigenerazione tissutale nel settore cardiovascolare è dato dalla fabbricazione di tessuti con opportune proprietà contrattili, da impiegare come *patch* cardiovascolari per il trattamento di specifiche patologie (ad esempio l'insufficienza cardiaca), che non hanno ancora un trattamento clinico risolutivo, se si eccettua il trapianto cardiaco. Tale tipo di applicazione della medicina rigenerativa richiede un alto livello di multidisciplinarietà, con competenze che spaziano dalla biologia (per esempio *harvesting* e differenziamento di cellule staminali) all'ingegneria biomedica (produzione di *scaffold* idonei alla rigenerazione tissutale; studio del condizionamento meccanico ed elettrico della *patch* cardiovascolare).

Pur considerando che le metodiche di ingegneria dei tessuti e, più in generale, di medicina rigenerativa sono ancora generalmente in una fase pionieristica, si può senz'altro affermare che tali metodiche hanno un grande potenziale nel trattamento di moltissime patologie del sistema cardiovascolare, dato che consentono idealmente di ottenere una apprezzabile similitudine strutturale e funzionale con gli organi e i tessuti nativi.

MEMBRANE ELETTROFILATE COME PIATTAFORME INNOVATIVE PER LA MEDICINA RIGENERATIVA

Ilaria Cacciotti

Dipartimento di Ingegneria, Università degli Studi Niccolò Cusano, Roma

Nel *design* di opportuni supporti (*scaffold*) per promuovere l'adesione, la proliferazione e il differenziamento selettivo di cellule staminali, per applicazioni nell'ambito della rigenerazione e dell'ingegneria tissutale, l'approccio biomimetico ha ricevuto notevoli attenzioni. In base a tale approccio, è fondamentale non solo riprodurre la composizione chimica del tessuto da rigenerare, ma anche la microstruttura e le proprietà superficiali, in termini di topografia e bagnabilità. Le proprietà chimiche e fisiche degli *scaffold* progettati possono essere opportunamente modulate per guidare il destino delle cellule staminali, favorendone l'adesione, la migrazione, l'orientamento e la proliferazione delle cellule, nonché il differenziamento, nel caso delle cellule staminali, verso specifici fenotipi cellulari (trasduzione meccanico-chimica). Tra le tecniche di produzione degli *scaffold*, l'elettrofilatura è da considerarsi un processo a basso costo, *user-friendly* e versatile, in grado di produrre fibre nano- e micro-metriche, con un ampio rapporto superficie-volume. Tale tecnica consente, inoltre, di produrre strutture che mimano quelle della matrice extracellulare tissutale nativa tipica dei diversi tessuti biologici, risultando idonee per guidare in modo selettivo il differenziamento delle cellule staminali verso fenotipi cellulari specifici e di promuovere l'organizzazione dei tessuti. Avviene in condizioni ambientali e, quindi, risulta notevolmente adatta a incapsulare e stabilizzare sostanze termolabili (biomolecole, farmaci, fattori di crescita, antiossidanti, agenti antimicrobici), garantendo il loro rilascio controllato e fornendo funzionalità specifiche. Le superfici delle membrane fibrose ottenute possono anche essere opportunamente modificate e funzionalizzate al fine di migliorare la risposta biologica.

In questo contesto, sono state ottenute membrane biopolimeriche e composite multifunzionali mediante elettrofilatura, di cui sono state studiate le proprietà microstrutturali, termiche e meccaniche e biologiche mediante osservazione a microscopia elettronica a scansione (SEM, *Scanning Electron Microscope*), diffrazione a raggi X, misure di spettroscopia (FT-IR, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*), calorimetria a scansione differenziale (DSC, *Differential Scanning Calorimetry*), diffrazione a raggi X (XRD, *X-Ray Diffraction*), analisi, prove di trazione uniassiali, test di citotossicità.

Terza sessione

**Metodiche per la rigenerazione tissutale in medicina
rigenerativa odontostomatologica**

Moderatore

Deborah Meleo

ASPETTI REGOLATORI E SCIENTIFICI PER LO SVILUPPO DI MEDICINALI PER TERAPIE AVANZATE

Michele Antonio Lopez (a), Manuele Casale (b)

(a) Libero Professionista, Roma

*(b) Professore Associato di Otorinolaringoiatria, Unità di Otorinolaringoiatria del
Policlinico Universitario Campus Biomedico, Roma*

Con l'aumentare della qualità degli strumenti diagnostici tridimensionali è aumentata la possibilità di investigare meglio le patologie che coinvolgono contemporaneamente il seno mascellare e le creste dentarie. Negli ultimi anni si va evidenziando sempre più l'importanza dei trattamenti combinati tra chirurgo orale ed otorino al fine di gestire le patologie di interesse comune e le patologie di confine tra i due ambiti specialistici.

È possibile trattare le comunicazioni oro-sinusali con interventi combinati nei casi in cui vi è una patologia dovuta a trattamenti non congrui sia dal punto di vista dentario che dal punto di vista implantare. È noto che per il singolo odontoiatra è particolarmente ostico il trattamento di questo tipo di patologia se non viene affiancato da uno specialista otorino soprattutto quando è necessario un approccio chirurgico in anestesia.

Per alcuni interventi combinati non sempre è richiesto l'utilizzo di sale operatorie con anestesia generale ma anche di sale più piccole, funzionalmente attrezzate, in cui si possa praticare una sedazione cosciente in ambiente protetto. Questo consente di aumentare il numero di interventi proponibili ai pazienti.

In molti casi, inoltre, è possibile effettuare un approccio frazionato alla patologia evitando l'ospedalizzazione del paziente e riducendo i costi di gestione.

Verranno indicati i criteri di arruolamento ed i criteri di approccio per interventi combinati e frazionati. Verrà altresì proposto un approccio alla gestione delle fistole oro-antrali attraverso l'utilizzo di biomateriali, in particolare lamine di corticale eterologhe al fine di evitare l'utilizzo di osso autologo.

CGF E BIOMATERIALI; SINERGIA TRA AUTOLOGO E ETEROLOGO

Massimiliano Marchetti
Odontoiatra Libero Professionista, Roma

La rigenerazione ossea e la gestione dei tessuti molli sono il cardine fondamentale sia in caso di riabilitazioni implantoprotesiche complesse sia nel caso di mantenimento di un elemento naturale.

Ad oggi sono numerose le aziende che forniscono sostituti ossei eterologhi che riescono ad avere ottime *performance* in termini di osteoinduzione e osteoconduzione.

L'aggiunta, a questi biomateriali, dei derivati ematici sembra migliorare ulteriormente queste *performance*.

L'utilizzo dei derivati ematici deve seguire protocolli standardizzati affinché possano garantire al paziente il miglior risultato possibile.

AUMENTI DI CRESTA ORIZZONTALI E VERTICALI CON *BONE RING* ETEROLOGHI E CGF

Ezio Gheno

Dipartimento di Scienze Morfologiche Chirurgiche, Mediche e Odontoiatriche Relative a Trapianti, Oncologia e Medicina Rigenerativa, Università degli Studi, Modena e Reggio Emilia

In questa presentazione viene proposta una tecnica chirurgica per ottenere incrementi verticali ed orizzontali, attuabile in ambito ambulatoriale ed in sola anestesia locale.

In particolare, sono stati utilizzati blocchi eterologhi collagenati di biomateriale (C-block o Sp-block OsteoBiol® della Tecnos) miscelati con CGF per mezzo del *Round Up* al fine di ottenere, in un solo tempo chirurgico un aumento tridimensionale per il posizionamento differito o contestuale di un impianto.

Si è evidenziato, come prima cosa, che con il *Round Up* (Silfradent, Italia) è possibile permeare efficacemente monoblocchi di *scaffold* porosi (Sp-Block, OsteoBiol® by Tecnos) con il CGF (Silfradent, Italia); in questo modo le caratteristiche strutturali dello *scaffold* e l'attività biologica del CGF vengono a sommarsi creando una efficace sinergia per la rigenerazione ossea.

RICOSTRUIRE *FLAPLESS* CON BIOMATERIALI, SPOSTARE IL LIMITE OLTRE DUBBI E PRECONCETTI

Andrea Grassi

Odontoiatra, Studio Odontoiatrico Associato Martini e Grassi, Reggio Emilia

Il momento dell'estrazione di un elemento dentale non recuperabile, è un momento biologico con un potenziale rigenerativo molto importante. L'alveolo che guarisce spontaneamente, anche quando ha pareti integre, subisce una contrazione sia in senso orizzontale che verticale. Questo collasso dei tessuti duri e molli aumenta proporzionalmente con la distruzione dell'alveolo al momento dell'estrazione.

Oggi sappiamo di poter ricostruire *flapless* un alveolo, quello che forse non tutti immaginano è fin dove possiamo spingerci in assenza di pareti ossee o addirittura di tessuto molle. Lavorare *flapless* cambia le regole del gioco e le pareti di tessuto duro perdono importanza a favore del tessuto molle che può altrettanto bene guidare la nostra ricostruzione.

Fondamentale è il collagene, sia in percentuale all'interno del biomateriale che nelle membrane riassorbibili per la protezione occlusale, che usiamo in più strati con la parte ruvida dell'ultimo rivolta verso i tessuti molli (*creeping* dei fibroblasti).

Non siamo sempre obbligati ad imbustare una membrana dove manca una parete ossea (*ice-cone technique*) ma possiamo anche appoggiare il biomateriale direttamente ai tessuti molli ed ottenere una nuova corticale. Questo fa sì che i limiti di un approccio *flapless* calino drasticamente e ancora di più se utilizziamo il tessuto granulomatoso interno all'alveolo e lo manteniamo pedunculato in zone di carenza di tessuto molle (*upside-down technique*), ottenendo a volte anche guarigione per prima intenzione. L'obbligo di imbustare una membrana si rende necessario quando i tessuti gengivali non sono perfetti ed abbiamo necessità di aumentarli contestualmente alla ricostruzione. Guarigione per prima intenzione che non deve essere assolutamente ricercata con l'accostamento dei tessuti molli, poiché la guarigione per seconda intenzione sopra le membrane esposte ci regala una enorme quantità di tessuto molle cheratinizzato da utilizzare in fase protesica.

Il fattore più importante è guidare la zona di guarigione per seconda intenzione, ponendo almeno 2,5 mm di membrana a protezione. Oltre a ciò possiamo aggiungere una membrana in politetrafluoroetilene (PTFE) non riassorbibile esterna ai tessuti, mantenuta per almeno 7-8 giorni, con effetto scudo per gli insulti del cavo orale nelle prime e più delicate fasi di guarigione (*the dome technique*).

Oggi in presenza di elementi dentali non devitalizzati abbiamo un'arma in più poiché possiamo trasformarli nel nostro *autograft* e reinnestarli tritati nell'alveolo del paziente.

CALCIO FOSFATO TRIBASICO CA3 (PO4)2 IMPIEGHI IN PARODONTOLOGIA E CHIRURGIA ORALE

Mauro Maragno

Odontoiatra Libero Professionista, Rovigo

Ad oggi pochi sono i dati in letteratura che pongono in evidenza l'uso del calcio fosfato tribasico in parodontologia ed in chirurgia orale, nonostante già negli anni 70 si era visto come tale biomateriale risultasse essere ottimo riparatore nelle ferite post-avulsione e post fratture oro-facciali.

Si è visto che innesti ossei sintetici (calcio fosfato tribasico) a contatto con le cellule osteoprogenitrici forniscono gli stessi vantaggi degli innesti ossei autologhi. Il calcio fosfato tribasico, progettato utilizzando la tecnologia nano-particelle, con le sue macroporosità, mesoporosità e microporosità permette di fornire a livello del tessuto osseo le sostanze nutritive e quindi una maggiore capillarità con formazione di neoangiogenesi, portando così alla formazione di nuovo osso e rendendo, quindi, tale composito un vero sostituto sintetico autogeno di osso spongioso.

Si è anche visto, inoltre, che il calcio fosfato tribasico risulta essere molto solubile, facilmente riassorbibile (nell'arco di 12-14 mesi) determinando il rilascio di calcio e fosfato utile nell'ancoraggio dell'adesione cellulare che porta a sua volta alla rigenerazione ossea. Utilizzando tale componente in quei pazienti che presentano un difetto osseo di riassorbimento a livello del seno mascellare e dei processi alveolari, sono stati posti in evidenza diversi tipi di difetti ossei, rispettivamente di maxi e mini rialzo di seno con contestuale posizionamento implantare, *ridge preservation*, *socket preservation* con o senza contestuale posizionamento implantare, zeppamento di ampie lacune ossee peri-apicali per accelerare la guarigione di apicectomie.

A differenza degli attuali biomateriali in commercio il Ca₃ (PO₄)₂ si è visto essere un ottimo osteoinduttivo e risulta essere molto comoda la sua formulazione in *putty* dispensata da siringa che ne facilita l'apposizione sul sito ricevente l'innesto.

UTILIZZO DI DENTINA AUTOGENA IN CHIRURGIA RIGENERATIVA PARODONTALE: VALUTAZIONE *IN VITRO* SULLA RISPOSTA BIO-MORFOLOGIA DEI FIBROBLASTI DEL LEGAMENTO PARODONTALE

Enrico Marchetti (a, b), Sara Bernardi (a), Giuseppe Marzo (a,b)

(a) *Dipartimento di Medicina Clinica, Sanità Pubblica, Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università degli Studi, L'Aquila*

(b) *Reparto di Parodontologia, Università degli Studi, L'Aquila*

Introduzione. L'odontoiatria rigenerativa mira a ripristinare quei volumi e tessuti persi a causa della malattia parodontale. Nel corso degli anni, la ricerca si è concentrata sullo sviluppo di materiali che potrebbero costituire un innesto ideale per la rigenerazione dei tessuti. Uno di questi è rappresentato dalla dentina autogena. Scopo di questa ricerca è valutare *in vitro* la biocompatibilità di un innesto dentinale ottenuto con il protocollo *Smart Grinder*.

Materiali e metodi. La linea cellulare umana costituita da fibroblasti del legamento parodontale (*Human Periodontal Ligament Fibroblasts*, HPLF) è stata utilizzata per la sottocultura in base alle istruzioni del produttore. Prove XTT sono state eseguite per valutare la sopravvivenza cellulare ed istologica, analisi al microscopio elettronico a scansione, invece, per valutare i cambiamenti morfologici in risposta al nuovo materiale. Il particolato di dentina autogena è stato ottenuto secondo il protocollo *Smart Grinder* (KometBio, Cresskill, NJ, USA), mentre osso bovino deproteinizzato (Bio-oss, Geistlich, Thiene, VI, Italia) è stato impiegato come controllo con materiale di riferimento. Le risposte sono state valutate a 24 e 72 ore e a 7 giorni di coltura.

Risultati. I risultati a 24 ore mostrano una sopravvivenza cellulare del 96,7% nei campioni con dentina autogena, mentre del 98,9% in quelli con osso bovino deproteinizzato. I risultati a 72 ore mostrano una sopravvivenza cellulare del 105% nei campioni con dentina autogena, mentre del 140% in quelli con osso bovino deproteinizzato. I risultati a 7 giorni sono coerenti con quelli a breve termine: la sopravvivenza cellulare con la dentina autogena è stata del 152% e quella con l'osso bovino deproteinizzato è stata del 186%. I dati morfologici hanno confermato le analisi biologiche mostrando la perfetta biocompatibilità e le proprietà *cell-friendly* dei materiali valutati.

Conclusioni. La dentina autogena ottenuta con il protocollo *Smart Grinder* ha mostrato delle discrete caratteristiche di biocompatibilità sulla linea cellulare HPLF, seppur inferiori al materiale di controllo. Altri studi, *in vitro* ed *in vivo*, sono necessari per confermare questi dati e per migliorarli, secondo gli autori modificando il protocollo *Smart Grinder*.

RIGENERAZIONE TISSUTALE PREDICIBILE E SEMPLIFICATA MEDIANTE MIX FIBRINA SIGILLANTE/OSSO COLLAGENATO

Vincenzo Foti

Odontoiatra, Libero Professionista, Genova

La relazione è focalizzata su un approccio rigenerativo efficace, ma a bassa conoscenza nonostante l'autorevole evidenza scientifica esistente. L'obiettivo è quello di divulgare una nuova abilità anche a favore di tecniche ben consolidate. La Fibrina Sigillante (FS) è un coagulo addizionale di origine umana. Ha azione adesiva, sigillante e induttiva che stimola la rigenerazione dei tessuti duri e molli.

La FS, mescolata con *bone chips* e biomateriali, consente una miglior manipolazione dell'innesto che, diventando adesivo, plastico e malleabile, si adatta perfettamente alla morfologia dei difetti ossei senza dispersione di granuli. È efficace anche sulla protezione delle ferite chirurgiche ottenendo una guarigione più rapida dei tessuti molli. Questo approccio è eccellente nella *socket preservation* e nella rigenerazione peri-implantare sui siti "chiusi" dove gli impianti sono all'interno dei difetti. Questi casi non richiedono l'utilizzo di membrane.

Nei siti "aperti", dove gli impianti sono al di fuori dei difetti e in GBR (*Guide Bone Regeneration*) orizzontale/verticale, la FS consente l'adesione e la stabilità dell'innesto senza alcun contenimento, ma le membrane sono necessarie. Un altro vantaggio è la fissazione efficace di CTG (*Connective Tissue Graft*), FGG (*Free Gingival Graft*), membrane, lamine ossee eterologhe senza perni o suture.

NANOMATERIALI E CELLULE STAMINALI PER LA RIGENERAZIONE DEI TESSUTI DENTALI

Giovanna Orsini

Professore Associato di Materiali Dentari e Odontoiatria Restaurativa, Dipartimento di Scienze Cliniche ed Odontostomatologiche, Università Politecnica delle Marche, Ancona

I tessuti duri della corona dentale possono essere ripristinati utilizzando diversi materiali che sono stati migliorati con l'introduzione della nanotecnologia. Tuttavia, sebbene lo sviluppo di nuovi biomateriali abbia migliorato la qualità del trattamento, esistono numerosi limiti nella funzionalità e nella longevità dei restauri dentali. Per superare questo problema, sono emerse nuove idee e strategie dal campo dell'ingegneria tissutale e della biologia delle cellule staminali. Infatti, la rigenerazione dei tessuti dentali si basa sulla sostituzione e sul ripristino funzionale del tessuto danneggiato (o patologico) dallo stesso tessuto biologico sano. In questa presentazione verranno esaminati struttura e ultrastruttura della corona del dente; stato dell'arte, innovazioni nanotecnologiche e applicazioni cliniche dei materiali restaurativi, principi di ingegneria tissutale e potenziale rigenerativo delle cellule staminali dentali.

VALUTAZIONE DELLA RETE VASCOLARE NELL'OSSO CRESTALE ATROFICO MEDIANTE MICROTOMOGRAFIA CON RADIAZIONE DI SINCROTRONE. FONDAMENTI PER UNA VARIANTE ALLA TECNICA CHIRURGICA CONVENZIONALE

Tonino Traini (a), Raffaele Sinibaldi (b), Enrico Matteo Traini (c), Bruna Sinjari (a),
Giuliana Tromba (d)

(a) *Dipartimento di Scienze Mediche, Orali e Biotecnologiche, Università degli Studi G.
D'Annunzio, Chieti-Pescara*

(b) *Multimodal3D S.r.l., Roma*

(c) *Dipartimento di Farmacia, Università degli studi G. D'Annunzio, Chieti-Pescara*

(d) *SYRMEP, Elettra-Sincrotrone, International Research Center, Basovizza, Trieste*

L'avulsione degli elementi dentari porta, dopo la guarigione dell'osso alveolare, a profondi cambiamenti nell'architettura della rete vascolare. Non sono reperibili in letteratura informazioni sulla organizzazione 3D della rete vascolare nell'osso atrofico, nonostante queste informazioni siano cruciali per l'adozione di tecniche chirurgiche appropriate. Scopo principale del lavoro è di valutare l'organizzazione vascolare intraossea in creste edentule mandibolari con grave atrofia ossea. I risultati preliminari ottenuti suggeriscono una possibile variante alla tecnica chirurgica per l'espansione crestale in implantologia, in modo da massimizzare la preservazione del letto vascolare. Sono stati analizzati blocchi di osso mandibolare ottenuti da prelievi effettuati su otto cadaveri che presentavano gravi atrofie ossee nei settori posteriori della mandibola. Le analisi sono state condotte mediante micro-tomografia computerizzata presso il sincrotrone Elettra di Trieste (SRmCT, *Synchrotron Radiation micro-Computed Tomography*), analisi istologica convenzionale con microscopio ottico a campo chiaro (LM, *Light Microscope*) e luce polarizzata circolare (CPL, *Circularly Polarized Light*), nonché con tecnica *resin cast* al microscopio elettronico a scansione (SEM, *Scanning Electron Microscope*). Nelle regioni posteriori della mandibola, all'interno della compagine del tessuto osseo, sono stati rilevati numerosi capillari con diametro medio (\pm SD) di 154,0 (\pm 79,0) μ m a decorso parallelo a quello del canale mandibolare (orizzontale). Viceversa, il numero di capillari a decorso verticale era esiguo e costituito da capillari più piccoli, in media di 55,7 (\pm 24,6) μ m. La sezione dei capillari nei due tipi di decorso differisce significativamente ($P < 0,05$). Sulla base dei risultati dell'indagine si rileva che la perdita del plesso vascolare periodontale dopo avulsione dentaria compromette la vascolarizzazione ad andamento verticale nelle mandibole atrofiche. Pertanto, nella procedura chirurgica di espansione crestale, non si dovrebbero eseguire i tagli di scarico verticali ma sostituirli con fori ben distribuiti di dimensioni non superiori ai 0,7 mm per incrementare l'elasticità dell'osso preservando nel contempo l'integrità dei vasi principali durante l'inserimento degli impianti dentari.

Quarta sessione

**Metodiche per la rigenerazione tissutale
in medicina rigenerativa ortopedica**

Moderatore

Paola Meli

L'USO DELLE CELLULE STAMINALI IN ORTOPEDIA

Fabrizio Di Feo

Responsabile dell'Unità Operativa di Chirurgia a Ciclo Breve, Ortopedia, ASL Roma 3, Roma

I disturbi muscoloscheletrici legati all'età rappresentano una delle cause principali di morbilità a livello globale e comportano costi enormi per la salute. Malattie croniche e infiammatorie delle articolazioni e della spina dorsale, compresa l'osteoartrite e la lombalgia causata dalla degenerazione del disco intervertebrale, sono le principali cause di disabilità negli anziani. Il progressivo aumento della aspettativa di vita e della qualità di vita in rapporto all'età ha creato una nuova generazione di pazienti che vogliono prestazioni dal loro apparato osteoarticolare migliori rispetto a quanto richiesto dalle generazioni precedenti. L'aumento delle patologie muscolo scheletriche associato prevalentemente all'invecchiamento della popolazione evidenzia una necessità acuta e urgente di un cambiamento radicale nelle strategie sanitarie che comportano interventi sullo stile di vita tali da prevenire questi disturbi.

L'uso delle cellule staminali mesenchimali (MSC) ha mostrato una promessa considerevole per l'uso nelle patologie cartilaginee e intrarticolari e viene clinicamente esplorato come una nuova terapia per trattare una varietà di altre malattie immuno-mediate. Le MSC hanno potenziali applicazioni nell'ingegneria dei tessuti e nella medicina rigenerativa e può rappresentare una valida alternativa alla chirurgia per la riparazione della focale lesioni nella cartilagine.

Nella sua relazione l'autore esamina il vantaggio nell'utilizzo delle cellule staminali nella patologie osteoarticolari.

PARABIOSI ETEROCRONICA: E' POSSIBILE INTERROMPERE IL PROCESSO DI DEGENERAZIONE DISCALE? STUDIO SPERIMENTALE *IN VIVO*

Debora Colangelo (a, b), Virginia Pambianco (b), Paul D. Robbins (b), Laura Niedernhofer (b),
Vo Nam (c), Enrico Pola (a)

(a) *Università Cattolica, Roma*

(b) *The Scripps Research Institute, Università della Florida, La Jolla, California, USA*

(c) *Università degli Studi, Pittsburgh, Pennsylvania, USA*

Introduzione. Il danno stocastico porta alla senescenza cellulare e di conseguenza all'*aging* multi-organo. Questo processo può essere dettato da un meccanismo autonomo (autocrino) o non-autonomo (paracrino ed endocrino). La parabiosi è un prototipo efficace per chiarire quale *pathway* sia coinvolto nella degenerazione discale al fine di manipolarlo. Attraverso il chimerismo ematico ottenuto tra un topo giovane WT (*Wild Type*, tipo selvaggio) ed un modello murino con invecchiamento precoce (*Erc1/-Δ*) si è in grado di ritardare o addirittura regredire il processo di invecchiamento.

Materiali e metodi. Sono state utilizzate: 3 coppie di topi WT di 40 giorni in parabiosi isocronica (connessione chirurgica tra individui della stessa età), 3 coppie di topi *Erc1/-Δ* di 64 giorni in parabiosi isocronica (modello con deficienza di riparazione del DNA e conseguente invecchiamento precoce), 3 coppie in parabiosi eterocronica (topi di diverse età con il sistema circolatorio congiunto). Alcuni dei topi analizzati esprimevano la proteina GFP (*Green Fluorescent Protein*, proteina fluorescente verde) sotto il controllo del fattore NF-κB, molecola di recente scoperta in grado di favorire la degenerazione discale e di conseguenza il *low back pain*. I topi sono stati sacrificati a distanza di 4 settimane, 5 dischi lombari per ogni topo sono stati analizzati attraverso una quantificazione proteica normalizzata per il DNA (1-9 dimethylmethylene blue assay). La colonna toracica è stata analizzata istologicamente (E&H & Saff O). La *sharing circulation* e la formazione di diverse unità anastomotiche tra i due partner è stata testata in tutti i topi attraverso una iniezione retro-orbitale di un colorante e attraverso la somministrazione di nano-perle fluorescenti in uno solo dei due topi simbiotici. La neo-angiogenesi è stata testata utilizzando la parabiosi tra un modello murino che esprime GFP solo in corrispondenza dei vasi (Tie2-eGFP) e tra un topo WT. Anti-CD 31 è stato utilizzato per identificare le cellule endoteliali. I livelli di senescenza cellulare (perdita dell'espressione della laminina b1) sono stati valutati tramite l'immunofluorescenza.

Risultati. L'esposizione del topo progeroide (*Erc1/-Δ*) ai fattori ematici del topo più giovane porta ad un netto miglioramento della componente proteica del nucleo polposo intervertebrale (t-test, p value=0,0023, $0,7271 \pm 0,04615$ vs $0,3785 \pm 0,02018$, i.c. 95%). Nessuna differenza statisticamente significativa è stata evidenziata tra il topo giovane ed i rispettivi controlli. Dall'analisi istologica si evidenzia un miglioramento nell'organizzazione del disco intervertebrale, un aumento di altezza del nucleo polposo e un minore numero di fissurazioni dell'*anulus fibrosus* nel topo progeroide in parabiosi

eterocronica rispetto al suo controllo in parabiosi isocronica e al topo progeroide non trattato chirurgicamente. È stata osservata, inoltre, una migrazione di cellule staminali e un miglioramento della qualità dell'osso nel topo in progeroide in parabiosi etero cronica.

Discussione e conclusioni. È possibile ridurre la degenerazione discale intervertebrale attraverso l'esposizione del topo progeroide a siero derivante da un organismo più giovane. Tramite l'identificazione di questo fattore, si potrà giungere alla somministrazione dell'elisir di giovinezza anche nell'uomo per combattere la causa più comune di invalidità nei giovani adulti.

INDICE DEGLI AUTORI

Bernardi S.; 26
Borro L.; 11
Cacciotti I.; 12; 18
Campioni I.; 12
Casale M.; 21
Colangelo D.; 34
Colosi C.; 13
D'Alessandro D.; 16
D'Avenio G.; 17
Daniele C.; 3
Danti S.; 16
Di Feo F.; 33
Foti V.; 27
Galli M.C.; 4
Gheno E.; 23
Giuliani A.; 14
Grassi A.; 24
Gupta N.; 12
Lopez M.A.; 21
Maragno M.; 25
Marchetti E.; 26
Marchetti M.; 22
Marzo G.; 26
Meli P.; 7
Milazzo M.; 16
Nam V.; 34
Niedernhofer L.; 34
Orsini G.; 28
Pambianco V.; 34
Perale G.; 16
Pertici G.; 16
Pola E.; 34
Rini M.S.; 5
Robbins P.D.; 34
Sinibaldi R.; 29
Sinjari B.; 29
Tatullo M.; 15
Traini E.M.; 29
Traini T.; 29
Tromba G.; 29

*Serie ISTISAN Congressi
gennaio-marzo 2018 (n.1)*

*Stampato in proprio
Settore Attività Editoriali - Istituto Superiore di Sanità, Roma*