

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

**Studio *in vitro* e *in vivo*
della biointegrazione di impianti dentali**

Rossella Bedini (a), Pietro Ioppolo (a), Perla Filippini (a),
Valentina Nastasi (a), Salvatore Caiazza (a), Alessandra Bianco (b),
Emanuela Ortolani (c), Pierluigi Barra (c)

(a) Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma
(b) Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche, Università degli Studi "TorVergata", Roma
*(c) Unità Operativa di Pronto Soccorso, Accettazione ed Urgenze Differibili,
Ospedale "G. Eastmann", Roma*

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN
04/2

Istituto Superiore di Sanità

Studio *in vitro* e *in vivo* della biointegrazione di impianti dentali.

Rossella Bedini, Pietro Ioppolo, Perla Filippini, Valentina Nastasi, Salvatore Caiazza, Alessandra Bianco, Emanuela Ortolani, Pierluigi Barra

2004, 30 p. Rapporti ISTISAN 04/2

In questo lavoro è stata eseguita la valutazione *in vitro* delle prestazioni meccaniche a fatica di impianti dentali, e la valutazione della risposta tissutale, *in vivo*, nel caso di inserimento degli impianti in osso, in associazione a fattori di crescita. Inizialmente il lavoro ha previsto la comparazione delle prestazioni meccaniche a fatica di impianti diffusamente utilizzati nella pratica clinica, e di impianti di ultima generazione (SLA, *Sandblasted Largegrid and Acid-etched*). È seguita un'indagine ultrastrutturale volta ad individuare eventuali alterazioni della struttura superficiale degli impianti testati. Gli impianti SLA sono stati inseriti in osso di femore di coniglio in associazione a fattori di crescita. Il grado di osteointegrazione raggiunto dagli impianti SLA, dopo un periodo di 12 giorni, è stato valutato eseguendo prove meccaniche di trazione, successive osservazioni al SEM (*Scanning Electron Microscope*) e un'analisi istologica. Dai risultati ottenuti emerge che l'utilizzo dei fattori di crescita incrementa la rigenerazione ossea, che favorisce la stabilità primaria, impedendo la mobilizzazione dell'impianto, risultato alla base di un successo a lungo termine della terapia implantare.

Parole chiave: Osteointegrazione, Impianti dentali, SLA, Fattori di crescita, Prove meccaniche di trazione, SEM, Mobilizzazione

Istituto Superiore di Sanità

Biointegration of dental implants: an *in vitro* and *in vivo* study.

Rossella Bedini, Pietro Ioppolo, Perla Filippini, Valentina Nastasi, Salvatore Caiazza, Alessandra Bianco, Emanuela Ortolani, Pierluigi Barra

2004, 30 p. Rapporti ISTISAN 04/2 (in italiano)

This work wants evaluate the *in vitro* fatigue mechanical performances of dental implants and the *in vivo* osteointegration process of dental implants, who have been installed in rabbit's femur, in association to growth factors. Initially, the fatigue mechanical performances of five groups of dental implants were compared. After, a SEM (Scanning Electron Microscope) observation was executed, to identify possible alterations of the superficial structure. In the second part of the experimentation, last generation dental implants (SLA, Sandblasted Largegrid and Acid-etched) were installed in rabbit's bone in association to growth factors. After twelve days, the osteointegration of SLA implants was evaluated executing mechanical tests to traction, SEM observations and histologic analysis. The results show that the use of growth factors increases the bony regeneration, preventing the mobilization by dental implant, turned out to the base of a long term success by therapy.

Key words: Osteointegration, Dental implant, SLA, Growth factors, Mechanical test, SEM, Mobilization

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

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro* e *Sandra Salinetti*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© Istituto Superiore di Sanità 2004

INDICE

| | |
|--|----|
| Introduzione | 1 |
| 1. Impianti dentali | 2 |
| 1.1. Tipi..... | 2 |
| 1.1.1. Impianti endossei a forma di radice..... | 3 |
| 1.1.2. Impianti endossei a lama..... | 3 |
| 1.1.3. Impianti sub-periostei..... | 4 |
| 1.1.4. Impianti trans-ossei..... | 4 |
| 1.2. Materiali..... | 5 |
| 1.2.1. Biocompatibilità dei materiali..... | 7 |
| 1.2.2. Microtrattamenti di superficie..... | 8 |
| 1.3. Decontaminazione e sterilizzazione..... | 9 |
| 2. Tessuto osseo | 11 |
| 2.1. Istologia e fisiologia..... | 11 |
| 2.2. Modificazioni ossee dopo l'inserimento dell'impianto..... | 11 |
| 2.3. Cause di danno al tessuto..... | 13 |
| 2.3.1. Surriscaldamento dei tessuti..... | 13 |
| 2.3.2. Fratture del tessuto osseo..... | 13 |
| 2.3.3. Interruzioni vascolari..... | 13 |
| 2.3.4. Compressione nel tessuto..... | 14 |
| 2.3.5. Cavità sovradimensionata..... | 14 |
| 3. Analisi sperimentale | 15 |
| 3.1. Sperimentazione <i>in vitro</i> | 15 |
| 3.1.1. Materiali e metodi..... | 15 |
| 3.1.2. Risultati..... | 19 |
| 3.1.3. Discussione..... | 21 |
| 3.2. Sperimentazione <i>in vivo</i> | 21 |
| 3.2.1. Materiali e metodi..... | 21 |
| 3.2.2. Risultati..... | 24 |
| 3.2.3. Discussione..... | 26 |
| Conclusioni | 28 |
| Bibliografia | 30 |

INTRODUZIONE

Le ricerche più complesse in campo odontoiatrico sono, attualmente, quelle che riguardano la branca dell'implantologia, e sono mirate alla realizzazione di dispositivi impiantabili dentali, validi supporti per il riposizionamento di elementi dentali mancanti. Lo scopo principale è quello di migliorare i materiali costitutivi, le tecniche implantoprotesiche, le prestazioni meccaniche e i tempi di guarigione.

I primi impianti sperimentati su pazienti edentuli furono caratterizzati da numerosi fallimenti clinici, a causa degli effetti collaterali che si presentavano dopo l'inserzione dell'impianto nell'ambiente biologico.

Alla fine degli anni sessanta Branemark, eseguendo studi sull'interazione tra osso e impianti dentali, scoprì il fenomeno dell'osteointegrazione. Sulla base dei risultati ottenuti da queste ricerche, furono stabilite le metodiche fondamentali da rispettare al fine di ottenere un successo a lungo termine della terapia implantare. I fattori fondamentali che dovevano essere considerati, oltre che riguardare la condizione clinica del paziente e la tecnica chirurgica utilizzata, erano legati alla scelta del materiale con cui si realizzava l'impianto, al tipo di conformazione geometrica, agli eventuali condizionamenti o lavorazioni superficiali e alle condizioni di sollecitazioni applicate (1-3).

Oggi, la metodica sviluppata da Branemark rappresenta il punto di partenza di ogni trattamento implantare. Le sperimentazioni attuali sui dispositivi impiantabili dentali, tuttavia, hanno come obiettivo l'individuazione dell'*optimum* tra gli impianti che renda più rapido il processo di osteointegrazione e consenta, quindi, il caricamento precoce.

Lo studio in questione si articolerà in due parti in cui si affronteranno tutti questi punti in modo esteso e approfondito.

Nella prima parte della sperimentazione si confronteranno le prestazioni meccaniche a fatica tra impianti dentali SLA (*Sandblasted Largegrid and Acid-etched*) e 4 tipi di impianti tradizionali (impianti di controllo), sulla base di un draft di normativa europea. Dopo le prove meccaniche, tutti i campioni saranno osservati al microscopio elettronico a scansione (*Scanning Electron Microscope*, SEM) al fine di evidenziare eventuali alterazioni strutturali della superficie. Per gli SLA sarà, successivamente, eseguita un'analisi radiologica.

Nella seconda parte, impianti SLA saranno inseriti in osso di femore di coniglio in associazione a "fattori di crescita". Lo scopo sarà di confrontare il grado di osteointegrazione, a 12 giorni, tra gli impianti inseriti con i fattori di crescita e quelli inseriti in modo tradizionale, eseguendo prove di trazione e, successivamente, effettuando osservazioni al SEM, al fine di stimare la rigenerazione tissutale intorno alla superficie implantare. La qualità del tessuto rigenerato, eventualmente presente, sarà determinata con un'analisi istologica.

1. IMPIANTI DENTALI

Il termine impianto, in campo medico, si riferisce ad un dispositivo medicale, progettato per essere inserito chirurgicamente al posto di una parte del corpo, in modo da ripristinare la normale funzionalità persa a causa di un trauma o di una patologia.

L'evoluzione delle tecnologie mediche mira non solo a migliorare lo stato fisico dei pazienti, ma anche la loro qualità di vita.

L'implantologia odontoiatrica è il ramo più recente della moderna odontoiatria e, ultimamente, ha raggiunto livelli di sicurezza, affidabilità e successi nel tempo tali da renderla la soluzione ottimale per qualsiasi caso di sostituzione di elementi dentali persi per un trauma, una patologia o per cause congenite.

1.1. Tipi

Nel 1952, Branemark introdusse i principi che portarono allo sviluppo tecnologico e, quindi, alla diffusione degli impianti endossei. I dati ottenuti dalle sue ricerche furono resi pubblici intorno agli anni '80. Prima di allora, il mercato dei dispositivi impiantabili dentali era molto ristretto e dominato dagli impianti a lama e subperiosteali. Sebbene negli ultimi 15 anni gli impianti endossei a forma di radice, siano diventati quelli d'uso più comune in implantologia, riportiamo, qui di seguito, una breve descrizione delle varie tipologie implantari e delle condizioni per le quali è richiesto il loro utilizzo.

In base alle loro caratteristiche strutturali, gli impianti possono essere classificati nel seguente modo:

- *impianti endossei*: a forma di radice, a lama;
- *impianti sub-periosteali*: completi, unilaterali, circolari;
- *impianti trans-ossei*: a graffetta, a perno singolo, ad ago.

Quando parliamo di impianti dentali, ci riferiamo a dispositivi che sostituiscono la parte radicale di uno o più denti mancanti, sopra la quale è successivamente posizionata la corona artificiale. Tutti gli impianti sono costituiti da tre componenti fondamentali: il corpo dell'impianto (*fixture*), il moncone (*abutment*) e la vite del moncone (Figura 1).

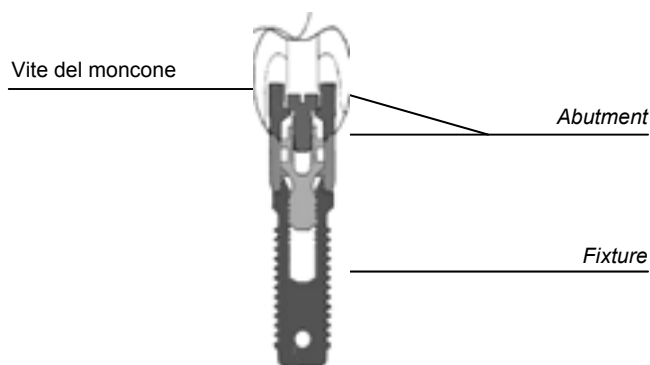


Figura 1. Complesso impianto-protesico

La *fixture*, dopo un'accurata fase diagnostica, è impiantata completamente sommersa nell'osso e ricoperta dalla gengiva. Dopo un periodo di pausa, variabile tra i 4 e i 6 mesi, si effettua una seconda fase chirurgica che consiste nella riapertura della gengiva, lo scoprimento della *fixture* e la connessione ai monconi, sui quali saranno cementate o avvitate le corone di porcellana.

1.1.1. Impianti endossei a forma di radice

Questi impianti, originariamente progettati da Branemark, hanno la dimensione e la forma della radice di un dente naturale e sono utilizzati, in genere, se l'osso è largo e profondo, affinché possa costituire la base per il posizionamento di uno o più denti, o per la sostituzione di un arco completo. Per quanto riguarda le dimensioni, il diametro varia dai 3,2-7 mm, mentre la lunghezza varia dai 10-18 mm; la superficie (Figura 2) può presentarsi filettata o meno, e può presentare differenti microstrutture superficiali relative ai trattamenti superficiali cui è sottoposto il corpo dell'impianto: sabbiatura, mordenzatura, *Titanium Plasma-Sprayed* (TPS), ecc.

La filettatura della *fixture* e le macro e micro porosità prodotta dai diversi trattamenti superficiali, hanno lo scopo di stabilizzare l'impianto quando è inserito nell'osso e di aumentarne l'area superficiale per favorire il processo di osseointegrazione.

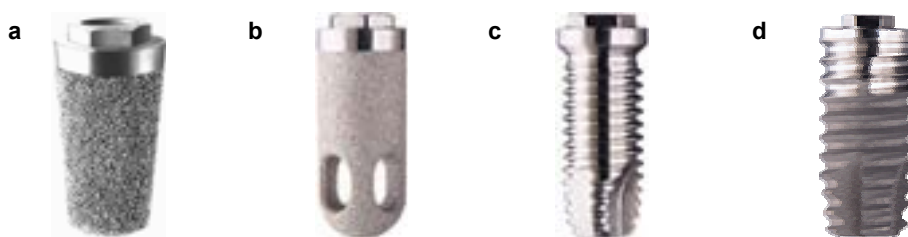


Figura 2. Impianto cilindrico a forma di radice rivestito di TPS (a); impianto cilindrico a forma di radice ricoperto in idrossiapatite (b); vite in titanio liscio (c); vite sabbiato e mordenzato (d)

1.1.2. Impianti endossei a lama

Gli impianti endossei a lama (Figura 3), sono utilizzati quando lo spessore dell'osso è insufficiente, ma si ha un'adeguata profondità. Questi impianti sono costituiti da una *fixture* metallica piatta, che è inserita all'interno dell'osso.

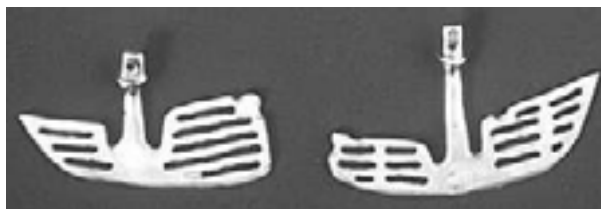


Figura 3. Impianti endossei a lama destinati alla mandibola, con rivestimento in idrossiapatite

Questi impianti possono avere forme diverse, da adattare alla struttura anatomica nella quale deve essere inserito. La dimensione medio-distale dell'impianto è generalmente maggiore di quella del dente e questo può causare difficoltà per il posizionamento del dente stesso.

1.1.3. Impianti sub-periosteali

Questi dispositivi (Figura 4) sono utilizzati quando la larghezza e la profondità dell'osso non sono tali da consentire l'inserimento di perni endossei; sono progettati per essere inseriti sulla parte superiore dell'osso, naturalmente sempre sotto la gengiva.



Figura 4. Impianto subperiosteale progettato per essere inserito nella mascella senza penetrare nell'osso stesso. L'impianto presenta un rivestimento in idrossiapatite

Gli impianti subperiosteali sono dotati di pilastri, che si proiettano attraverso il tessuto gengivale, nella cavità orale; per ogni paziente si esegue un modello della mandibola, sulla base del quale l'impianto è fabbricato. Dei dispositivi di ritenzione sono disposti sui pilastri che fuoriescono dalla gengiva, per poi inserire la ricostruzione delle corone.

1.1.4. Impianti trans-ossei

Questo tipo di impianti (Figura 5) presenta una serie di viti che si estendono verso il fondo nella parte frontale della mandibola.

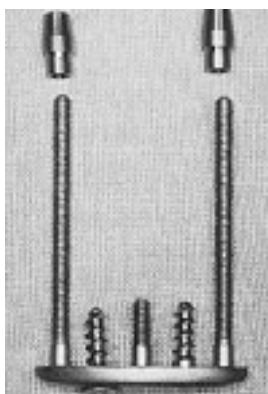


Figura 5. Le viti esterne più lunghe sono inserite attraverso il mento fino ad emergere dalla mandibola sopra la quale sarà posizionata la protesi

Le viti si attaccano alla parte piatta, situata sulla parte alta della mandibola, e due elementi si protendono oltre la gengiva per stabilizzare la protesi.

Un vantaggio che si ha nell'utilizzo di questi dispositivi è l'eccellente stabilità attraverso la ritenzione con l'osso. Tuttavia, sono indicati solo per la mandibola anteriore ed è necessaria un'incisione esterna al cavo orale, per il suo inserimento.

1.2. Materiali

Al fine di garantire un'efficace osteointegrazione, quindi un successo a lungo termine della terapia implantare, è fondamentale la scelta del materiale costitutivo dell'impianto e quella dell'eventuale trattamento superficiale cui è sottoposto, durante la fase di produzione, prima dell'inserimento in osso.

Condizione principale che deve essere rispettata dal materiale, utilizzato per la realizzazione dell'impianto, è quella della biocompatibilità, definita come la tolleranza dei tessuti vitali nei confronti del materiale stesso. In altri termini, è una misura della reazione dei tessuti biologici quando giungono a contatto con un elemento estraneo.

La biocompatibilità è, quindi, considerata come la capacità di un biomateriale di svolgere correttamente le proprie funzioni, inducendo una risposta adeguata da parte dell'ospite. Questa definizione implica oltre che l'assenza di effetti nocivi da parte di un biomateriale, anche le caratteristiche intrinseche, ad esempio quelle meccaniche, interessando, quindi, tutte le reazioni tra biomateriali e paziente.

Alla luce delle considerazioni fatte nel paragrafo precedente, e a prescindere dalla tipologia implantare i materiali attualmente più utilizzati nelle applicazioni implantoprotesiche sono il Titanio commercialmente puro e la sua lega $TiAl_6V_4$.

Il titanio è particolarmente apprezzato in implantologia odontoiatrica, poiché possiede un modulo elastico simile a quello dell'osso, un peso specifico quattro volte più piccolo di quello delle leghe auree e una conduttività termica molto bassa (quattordici volte più bassa di quella dell'oro). Queste caratteristiche consentono l'assorbimento dei carichi masticatori, trasmessi al tessuto osseo, attraverso la struttura implantare, senza sviluppo di tensioni. Inoltre, in base alla quantità di impurità presenti nel titanio CP o al tipo elementi aggiunti in lega al Ti, sono state raggiunte caratteristiche di durezza, robustezza e resistenza alla masticazione, tale da favorire il raggiungimento dell'osteointegrazione alla base dell'interazione impianto-osso.

In particolare il titanio puro è suddiviso in quattro gradi, secondo la standardizzazione dell'ASTM F67 e ISO 5832-2: all'aumentare del grado del titanio aumenta la presenza di elementi impuri (O_2 , Fe) che determinano da una parte il miglioramento delle proprietà meccaniche (durezza, modulo di elasticità), dall'altra la diminuzione della capacità osteointegrative.

L'utilizzo in lega al Ti dell'alluminio migliora la durezza e riduce il peso specifico, migliorando il modulo di elasticità. Il tutto si traduce in una maggiore elasticità e più equa distribuzione del carico all'interfaccia osso-impianto, minimizzando, insieme al vanadio, la conducibilità termica (circa il 50% in meno) e aumentando dello stesso valore la resistenza all'usura e alla fatica.

Le proprietà meccaniche del titanio puro e della lega $TiAl_6V_4$ sono descritte nella Tabella 1.

Il titanio CP di grado 2 e la lega $TiAl_6V_4$ sono i due materiali più utilizzati in campo medico, poiché uniscono alle proprietà fisiche eccellenti caratteristiche di biocompatibilità e resistenza alla corrosione. Tali caratteristiche sono legate in primo luogo al fenomeno della passivazione spontanea del Titanio, che è, quindi, in grado di resistere agli attacchi acidi e basici meglio di altri materiali (come ad esempio l'acciaio inossidabile) grazie alla formazione di un film di

ritilo (TiO_2) e di altri ossidi (TiO , Ti_2O_3 , Ti_3O_4) sulla sua superficie (6). Questo è conseguenza del fatto che il titanio esiste in differenti stati di ossidazione più o meno stabili, ma dipende anche dalla elevata capacità di solubilizzazione dell'ossigeno nel titanio, che determina variazione del rapporto O/Ti e delle corrispondenti proprietà fisiche. Tuttavia, la forma più stabile di ossido di titanio è TiO_2 , nel quale il titanio ha numero di ossidazione +4. Gli ossidi di titanio, e in particolare il TiO_2 , sono termodinamicamente molto stabili e presentano un'energia libera di Gibbs molto negativa, il che favorisce la formazione dell'ossido in molti mezzi come l'ossigeno, l'acqua o le molecole organiche.

Tabella 1. Proprietà meccaniche del Ti (ASTM F67 e ISO 5832-2) e della lega Ti6Al4V (ASTM F136 e ISO 5832-3)

| Proprietà | Ti puro | | | | Lega TiAl ₆ V ₄ |
|------------------------------------|---------|---------|---------|---------|--|
| | Grado 1 | Grado 2 | Grado 3 | Grado 4 | |
| Resistenza a trazione (MPa) | 240 | 345 | 450 | 550 | 860 |
| Carico di Snervamento (0,2%) (MPa) | 170 | 275 | 380 | 485 | 795 |
| Elongazione (%) | 24 | 20 | 18 | 15 | 10 |
| Strizione (%) | 30 | 30 | 30 | 25 | 25 |

È stato dimostrato da molti autori (7), usando diverse tecniche, che il film di ossido TiO_2 non interessa solo la superficie di titanio puro, ma si genera anche sulle leghe di titanio, in particolare sulla lega TiAl_6V_4 , quando è posta a contatto con l'aria o con i fluidi biologici. Si è riscontrata la rapida formazione dello strato di ossido di Ti di circa 10 \AA in meno di un millesimo di secondo. Nel giro di un minuto lo spessore di questo aumenta fino a circa $50\text{-}100 \text{ \AA}$.

La pellicola di ossido è inerte, estremamente omogenea, tenace, aderente e, se durante le varie fasi d'inserimento dell'impianto, l'ossido è danneggiato, si riforma istantaneamente. A tale pellicola di passivazione, si attribuisce anche l'azione batteriostatica del metallo.

Scopo di molti studi (8) è stato di incrementare la stabilità del film passivo e di ridurre il tasso di dissoluzione, attraverso trattamenti di superficie perimplantare, come:

- polarizzazione anodica;
- lucidatura industriale con paste di Al_2O_3 con granulometria da $0,05\text{-}6$ micron;
- passivazione con acido nitrico al $20\text{-}40\%$;
- deposizione di nitrato di titanio o plasma spray.

In condizioni ideali si è notato che il titanio è liberato in piccole quantità nei tessuti circostanti un impianto osseointegrato, senza danni di alcun tipo alle cellule adiacenti (9-11).

Altri studi dimostrano che alla concentrazione di 1×10^{-7} /ml le particelle di titanio di $1\text{-}3$ micron non sono tossiche per gli osteoblasti, ma si assiste ad una riduzione dell'attività della loro fosfatasi alcalina (8). Non sembrano esserci effetti sulla maturazione e proliferazione di queste cellule, ma sembra che esista un effetto inibente la loro attività mineralizzante.

Per minimizzare la concentrazione di particelle di titanio nella regione circostante l'impianto, si eseguono procedimenti di decontaminazione e plasma a freddo. Questo permette di rimuovere qualsiasi impurità superficiale residui della lavorazione industriale che determinerebbero le premesse di una non corretta osteointegrazione.

1.2.1. Biocompatibilità dei materiali

Analizzando la struttura delle varie tipologie di impianti, si osserva che dopo il posizionamento, il dispositivo è affondato soltanto parzialmente nei tessuti organici; questo comporta la presenza di una via teorica di accesso ai germi e ad altri insulti nocivi, che potrebbero causare una reazione di difesa dell'organismo. Nel caso in cui il cerchione perimplantare è integro, in perfetta contiguità con l'impianto, e non presenta connettivo lasso, questa struttura garantisce un ottimo sigillo. Questa condizione è ben rispettata se si utilizzano materiali biocompatibili, come, ad esempio, il titanio.

In applicazioni odontoiatriche è introdotto il concetto di biocompatibilità meccanica relativa al diverso modo di deformazione tra ospite e protesi. Il diverso modulo di elasticità, della protesi e del tessuto biologico, provoca deformazioni diverse nei due mezzi, le quali causano movimenti relativi sia in fase di applicazione che di rimozione della sollecitazione. Se questi movimenti rimangono in campo elastico, si possono creare sollecitazioni residue in grado di provocare scorrimenti tra le superfici, necrosi del tessuto osseo, mobilitazione della protesi e, conseguentemente, la sua rimozione.

Nell'ambito della biocompatibilità meccanica, un'altra condizione che deve essere rispettata, affinché non si interferisca in modo dannoso con l'ambiente biologico, è il minimo impegno volumetrico: infatti, il dispositivo implantare deve riempire per contiguità, uno spazio creato artificialmente nei tessuti organici, quindi, è necessario asportare una quantità minima di sostanza, nel rispetto del tessuto stesso. Consideriamo, inoltre, che l'ancoraggio di un impianto orale, è legato al tessuto osseo della mascella e della mandibola, strutture anatomiche di volume ridotto, spesso soggette ad atrofia legata all'edentulia. Importante, diventa interferire nel minor modo con il microambiente cellulare, poiché il buon funzionamento di questo bio-sistema, si basa su delicati equilibri: si deve garantire un buon trofismo, che dipende dall'irrorazione e dall'innervazione.

Se si asporta troppa sostanza ossea, si altera sia l'irrorazione, sia l'innervazione intrinseca dell'osso, che provoca un indebolimento delle sue capacità rigenerative, e potrebbe innescare un fenomeno di involuzione della rigenerazione tissutale, potenzialmente pericoloso. Da queste considerazioni è evidente la necessità di disporre di impianti con dimensioni ridotte, ma che nello stesso tempo, siano in grado di garantire un ancoraggio valido e di sostenere i carichi masticatori. A seguito di queste riflessioni cade la teoria, diffusa negli anni precedenti, su cui si basano gli impianti di espansione che presentano una *fixture* che si estende più in larghezza che in profondità, mentre si dimostra più corretta quella degli impianti in profondità. Avere degli impianti di ridotte dimensioni è indispensabile per non alterare le condizioni del tessuto osseo ospitante, affinché quest'ultimo non identifichi il manufatto impiantare come un corpo estraneo e cerchi di isolarlo con un'abbondante produzione di tessuto connettivale.

Molti autori (4, 5) dopo l'inserimento dell'impianto, ricercano lo stato di quiete, non caricandolo per un determinato periodo, seppellendolo sotto il mucoperiostio o proteggendolo con provvisori, per sottrarli all'azione delle masse muscolari. Tutto questo è emerso dalle osservazioni scaturite dalle esperienze della traumatologia ossea che prevede, per una corretta guarigione delle fratture, l'immobilità. Evoluzione di questa teoria è l'ipotesi di eseguire un caricamento precoce dell'impianto stesso, già annunciata da Branemark, utilizzando sostanze che stimolino la ricrescita ossea, in modo da favorire l'osteointegrazione. Questa si ottiene, in generale, quando l'impianto è in stato di quiete e l'osso perimplantare non è disturbato da forze parassite o fenomeni compressivi.

1.2.2. Microtrattamenti di superficie

Il trattamento superficiale ha lo scopo di aumentare l'area di contatto dell'impianto con i tessuti biologici, migliorando l'osteointegrazione fra il tessuto osseo e l'impianto. Già con la sola filettatura, il grado di resistenza alla forza di trazione e compressione è maggiore rispetto agli impianti lisci; la presenza di microritenzione sulla superficie della *fixture* permette di aumentare la resistenza alla trazione e torsione dell'impianto (Figura 6).

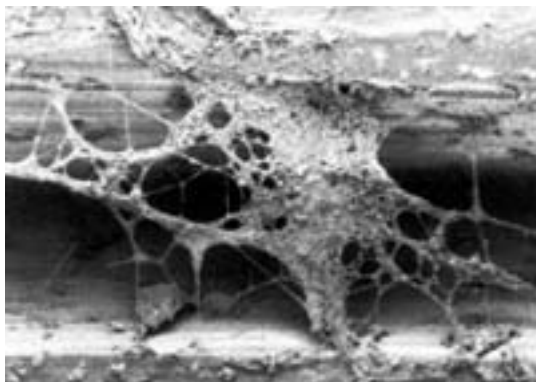


Figura 6. Micrografia di un impianto in titanio liscio (le righe di tornitura del metallo conferiscono un certo grado di rugosità; si possono notare strutture biologiche e cellule adese alla superficie)

Alcuni autori hanno dimostrato come macrofagi, cellule epiteliali e osteoblasti, presentino un elevato trofismo nei confronti di superfici rugose (12, 13). Questa proprietà è stata definita rugofilia. La superficie del titanio può essere preparata con diverse tecniche, tutte allo scopo di ottenere un grado di rugosità ottimale.

La sabbatura della superficie del titanio migliora le caratteristiche biomeccaniche dell'impianto e contribuisce ad aumentare la stabilità primaria (Figura 7); tuttavia, la preparazione della superficie deve essere tale da non alterare la biocompatibilità del materiale. Recenti ricerche hanno dimostrato che la sabbatura con particelle di biossido di alluminio, di diametro compreso fra 100 e 150 micron, è compatibile con una corretta osteointegrazione (14).



Figura 7. Micrografia di un impianto in titanio sabbato (x500)

Un'altra metodica di trattamento di superficie consiste nel rivestimento con TPS. Questa tecnologia è attualmente una tra le più utilizzate allo scopo di aumentare la rugosità superficiale dell'impianto. Tale processo si attua mediante un bruciatore al plasma ad arco voltaico che, è in grado di elevare la temperatura di un gas nobile o di N_2/H_2 nel quale sono spruzzate polveri di idruro di titanio con granulometria di 50-100 μm che, grazie alla fusione del loro strato più superficiale, aderiscono al corpo del cilindro sul quale sono deposte.

Il plasma si produce tra un anodo di rame e un catodo di tungsteno raffreddati. Si ottengono, in questo modo, rivestimenti porosi di spessori di circa 50 μm con un aumento della superficie totale disponibile per il legame fino a circa dieci volte. Numerosi studi hanno dimostrato che la preparazione con TPS, non solo permette di aumentare la superficie disponibile per l'adesione ossea, ma induce l'aumento della quota di superficie implantare che entra in contatto con il tessuto mineralizzato, in comparazione con impianti in titanio liscio. In termini clinici tali fenomeni si riflettono in un più forte ancoraggio osseo dell'impianto. Studi ultrastrutturali hanno dimostrato che una superficie di TPS può entrare in diretto contatto con il tessuto mineralizzato (Figura 8).

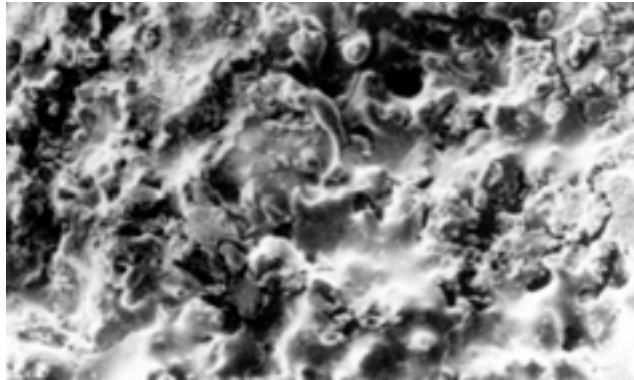


Figura 8. Micrografia SEM di un impianto con rivestimento in plasma spray (x1000)

Un altro tipo di processo che si esegue sulla superficie degli impianti dentali è il rivestimento con idrossiapatite, che favorisce la completa integrazione del metallo con i tessuti ossei umani. Tuttavia l'applicazione di questo rivestimento biocompatibile richiede un ulteriore miglioramento delle sue proprietà chimiche, biologiche e meccaniche.

Uno studio recente ha dimostrato l'efficacia di un particolare impianto con superficie sabbiata e mordenzata (SLA). Secondo gli autori, questo trattamento favorisce l'osteointegrazione, grazie ad un incremento dell'ancoraggio cellulare iniziale da parte degli osteoblasti (15).

1.3. Decontaminazione e sterilizzazione

La decontaminazione è quella procedura eseguita allo scopo di eliminare ogni alterante presente sulla superficie della *fixture*.

I contaminanti sono rappresentati dai resti della fabbricazione (oli, grassi, trucioli, ecc.), dai residui dei trattamenti di superficie (Al_2O_3 , acidi, ecc.) e da ogni altra particella di natura inorganica e organica in grado di compromettere la biocompatibilità del sistema.

La decontaminazione dei componenti meccanici si avvale di sostanze specifiche, applicate con tempi di azione ben definiti.

Il procedimento di sterilizzazione è il passaggio finale del trattamento di decontaminazione realizzato mediante procedure chimiche o fisiche che determinano la distruzione completa di tutti i microrganismi, comprese le spore.

La sterilizzazione degli impianti dentali può essere eseguita mediante autoclave o con raggi gamma. La sterilizzazione in autoclave consente una garanzia di sterilità di circa 30 giorni, mentre quella con raggi gamma da una garanzia di sterilità di cinque anni.

2. TESSUTO OSSEO

2.1. Istologia e fisiologia

Il tessuto osseo fa parte, assieme alla cartilagine, dei tessuti connettivi specializzati per la funzione di sostegno (16). Tale tessuto è costituito da una componente cellulare e da una sostanza fondamentale di varia composizione nella quale sono immersi gli elementi cellulari. La sostanza fondamentale è costituita da fibre di diversa natura (collagene, reticolari, elastiche) tra le quali si osserva una componente “anista” vischiosa costituita da glicoproteine, proteoglicani, glicosaminoglicani e mucopolisaccaridi.

La peculiarità del tessuto osseo è quella di essere mineralizzato: infatti, la sostanza intercellulare è per la maggior parte costituita da cristalli minerali, in prevalenza fosfato di calcio. La presenza di matrice extracellulare mineralizzata, l'abbondanza e la particolare distribuzione delle componenti organiche nella sostanza intercellulare, conferisce a questo tessuto proprietà meccaniche di durezza, di resistenza a compressione, a trazione e a torsione. Il tessuto osseo costituisce l'impalcatura di sostegno dell'organismo e, dato il notevole contenuto in sali di calcio, rappresenta il principale deposito di ioni calcio per le necessità metaboliche dell'intero organismo. La deposizione e la mobilizzazione del calcio nel tessuto osseo, controllate da meccanismi endocrini, contribuiscono, in modo sostanziale, alla regolazione dei livelli plasmatici dello ione stesso.

Esistono diversi tipi di tessuto osseo:

- *Tessuto osseo non lamellare*: presente nello scheletro dei pesci, degli anfibi e degli uccelli. Nei mammiferi è presente nello scheletro fetale, ma già durante la vita intrauterina è sostituito dall'osso lamellare.
- *Tessuto osseo lamellare*: principale costituente delle ossa umane, si presenta nelle sue forme di tessuto osseo spongioso e tessuto osseo compatto.
- *Dentina*: tipologia di tessuto osseo, principale costituente del dente.

La maturazione della componente inorganica, mineralizzazione, è un processo enzimatico a cascata, a cui partecipano elementi, prevalentemente di natura endocrina e metabolica, in grado di influenzare la formazione dell'osso. Ricordiamo in particolare: ormoni come il paratormone, prodotto dalle ghiandole paratiroidi, la calcitonina, prodotta dalle cellule parafollicolari della tiroide, l'ormone della crescita (*growth hormone*, o GH), prodotto dalla ghiandola ipofisi, gli ormoni tiroidei (tri- e tetraiodotironina, T3 e T4), gli ormoni sessuali (estrogeni, testosterone); alcune vitamine come le vitamine A e D liposolubili, e la vitamina C idrosolubile.

Di fondamentale importanza è l'ossigeno molecolare che sembra svolge un ruolo importante per la formazione dell'osso, non solo in quanto indispensabile per la fosforilazione ossidativa, ma anche come fattore di stimolo sulle cellule ossee e l'ossido nitrico (NO), radicale gassoso prodotto da molte cellule, incluse le cellule endoteliali, per il quale è stata dimostrata la capacità di indurre la differenziazione osteoblastica.

2.2. Modificazioni ossee dopo l'inserimento dell'impianto

L'inserimento di un impianto nell'osso deve essere considerato come un'aggressione all'integrità dell'organismo. Quando l'impianto, è introdotto nell'osso, per quanto progettuale adeguato, lascia sempre uno spazio vuoto, micrometrico, sede di fenomeni

biologici complessi, il cui evolversi è fortemente condizionato dalla stabilità meccanica iniziale dell'impianto stesso. Già nelle prime ore si verifica sul versante osseo una ischemia dei tessuti circostanti, con necrobiosi. Per effetto dell'aumento della permeabilità dei vasi preesistenti, cellule mesenchimali indifferenziate, prodotte negli spazi midollari, sono immesse per colmare l'intercapedine tra superficie ossea e impianto dentale. Questo fenomeno, definito migrazione e colonizzazione cellulare e vascolare, ha inizio all'interfaccia tra osso e impianto, già dopo quattro giorni dall'inserimento (17). Nei giorni seguenti si verificano la differenziazione cellulare e l'organizzazione del tessuto periprotetico, che coinvolgono le cellule adipose del midollo, i granulociti e i macrofagi, che accorrono per rimuovere i detriti cellulari e ossei in necrosi, e per dare inizio alla fase riparativa.

In una prima fase si ha lo sviluppo di un tessuto di granulazione costituente il primo tessuto riparativo, che colma l'intercapedine.

Un complesso di fattori, identificabili soprattutto in stimoli meccanici, modula la successiva differenziazione cellulare in senso osteoblastico o fibroblastico. La neoformazione ossea segue tutte le tappe che caratterizzano l'ossificazione diretta: reclutamento di osteoblasti, deposizione di osteoide, costituzione di osso immaturo a fibre intrecciate, strutturate in trabecole, che formano una rete tridimensionale che si sviluppa nell'intercapedine, attaccandosi alla superficie ossea preesistente e alla superficie dell'impianto dentale.

Questi eventi iniziano alla fine della prima settimana e si sviluppano nell'arco delle prime cinque settimane. Intorno alla sesta settimana, l'osso primitivo è progressivamente riassorbito e sostituito dall'osso lamellare, il quale si organizza in osso trabecolare o osso osteonico, in funzione della conformazione della superficie dell'impianto e della qualità degli stimoli meccanici a cui è soggetto.

Il verificarsi di micromovimenti dell'impianto dentale, può influenzare la differenziazione in senso fibroblastico (premessa per la formazione di un tessuto fibroso) che può risultare preponderante, tanto da stratificarsi all'interfaccia tra osso e impianto. Se lo strato di sostanza interstiziale non ossea è tale da non compromettere l'immobilità dell'impianto, questo risulta compatibile con la funzione della radice artificiale, diversamente, va a costituire una capsula fibrosa e non una connessione fibro-ossea. È possibile, tuttavia, che il tessuto connettivo fibroso ossifichi, se le condizioni locali diventano più favorevoli e si acquisisce una maggiore stabilità meccanica. In generale, l'obiettivo principale è quello di evitare il più possibile l'interposizione di tessuto fibroso intorno all'impianto.

Abbiamo visto che il tessuto osseo, in quanto tessuto vivente, è capace di rinnovarsi continuamente, assicurando un ancoraggio definitivo e quindi una stabilità secondaria, frutto di un processo di osteointegrazione. Tale processo richiede la nuova formazione dell'osso intorno all'impianto, resa possibile grazie al rimodellamento del tessuto osseo. L'equilibrio tra riassorbimento e apposizione contribuisce a mantenere stabili i livelli della calcemia senza alterare il volume osseo complessivo. Nell'osso spugnoso il rimodellamento avviene sulla superficie delle trabecole ossee. Le forze occlusali applicate in questa zona, rappresentano lo stimolo alla differenziazione delle cellule ossee in osteoclasti e osteoblasti. Lo stesso avviene a livello dell'osso compatto. Per mantenere costante il ritmo del rimodellamento osseo, sono necessari, un'adeguata stimolazione locale e la presenza di livelli ematici adeguati dell'ormone tiroideo, calcitonina e vitamina D. Lo stimolo esercitato dalle forze occlusali, lo stato di salute generale del soggetto, sono fattori importanti per un ottimale rimodellamento osseo (18).

2.3. Cause di danno al tessuto

Il fine primario dell'implantologia endossea è di permettere la miglior riparazione del tessuto circostante l'impianto, sia in termini di tempo sia di qualità dell'ancoraggio. È ovvio, che un'ottimale riparazione, del tessuto circostante un impianto, dipenda dalla limitazione del danno prodotto sui tessuti vivi, all'atto dell'inserimento.

2.3.1. Surriscaldamento dei tessuti

Un eccessivo riscaldamento dell'osso causa la necrosi di tutte le cellule in una zona variabile attorno alla sede chirurgica. Tutte le proteine dell'osso possono degenerare a causa del calore. Ad alta temperatura, anche per breve tempo, tutti gli induttori del tessuto osseo possono scomparire; la cicatrizzazione della lesione avviene con la formazione di tessuto cicatriziale fibroso.

Risulta di elevata importanza il controllo continuo e un adeguato raffreddamento del tessuto esposto a fresaggio (19, 20). In alcuni esperimenti eseguiti da Eriksson (21) è stata misurata la temperatura ossea a 0,5 mm di distanza dalla punta del trapano, durante la preparazione dell'alveolo per l'inserimento dell'impianto; da tali studi è emerso che, nonostante l'abbondante refrigerazione per mezzo di soluzione fisiologica, la temperatura media era di circa 90 °C.

Un altro esperimento, che dimostra come questa elevazione della temperatura sia critica, è stato effettuato sulle tibie dei conigli con l'inserimento di viti implantari in titanio. I risultati mostrano che:

- il riscaldamento dell'impianto per 1 minuto a 50 °C, ferma la rigenerazione ossea circostante per 4 settimane.
- il riscaldamento per 1 minuto a 47 °C rallenta significativamente il processo di recupero osseo.
- ad una temperatura di 44 °C, la formazione ossea non presenta alcuna riduzione avvertibile.

Questi dati evidenziano l'importanza del controllo della temperatura durante la fase di trapanazione, di maschiatura e di finitura della superficie dell'alveolo.

2.3.2. Fratture del tessuto osseo

Le operazioni di foratura, maschiatura e inserimento della protesi implantare possono causare fratture sia a livello dell'osso corticale che di quello spugnoso. Se l'osso corticale è filettato, la frattura del tessuto si estende molto lontano dal punto di inserimento dell'impianto. La necrosi conseguente è molto più estesa di quanto si percepisce ad occhio nudo. Nell'osso spugnoso le azioni chirurgiche provocano fratture trasversali delle trabecole.

2.3.3. Interruzioni vascolari

La rimozione di tessuto osseo può determinare l'interruzione vascolare e conseguentemente la necrosi degli osteociti lacunari a valle dell'interruzione stessa. La riduzione del flusso ematico danneggia sia il tessuto midollare sia quello trabecolare; le cellule osteogenetiche che hanno origine dagli osteociti endostali, non riescono a raggiungere l'impianto la cui superficie è circondata da osso necrotico e coaguli. In queste condizioni di distanza tra la superficie dell'impianto e l'osso vitale, il processo di riparazione è molto diverso, rispetto a quello che avviene in condizioni ottimali.

2.3.4. Compressione nel tessuto

Un'eccessiva compressione nel tessuto osseo può determinare sia fratture trabecolari che corticali e anche la riduzione del flusso ematico, con le conseguenze viste precedentemente.

La compressione può essere causata da: imprecisa azione chirurgica dovuta a strumentazione non adeguata; interferenza tra le dimensioni della cavità e le dimensioni dell'impianto; presenza di residui organici o di inclusioni di materiali estranei; compressione di liquidi nella cavità.

2.3.5. Cavità sovradimensionata

Una cavità le cui dimensioni siano più grandi di quelle dell'impianto, lascia un'interstizio pieno di coaguli: più grande è il divario da colmare con nuovo tessuto osseo, più lento è il recupero dell'osso. Abbiamo già affermato che la presenza di micromovimenti non favorisce la stabilizzazione primaria e, conseguentemente, la riparazione ossea.

3. ANALISI SPERIMENTALE

La sperimentazione che seguirà prevede la comparazione delle prestazioni meccaniche a fatica di impianti dentali e la valutazione della risposta tissutale che si ottiene dopo l'inserimento degli impianti dentali di ultima generazione in osso di femore di coniglio, in associazione a fattori di crescita.

La sperimentazione sarà suddivisa in due parti:

- Sperimentazione *in vitro*
Saranno valutate le prestazioni meccaniche a fatica di 4 diversi tipi di impianti già ampiamente utilizzati nella clinica impiantiva odontoiatrica. Successivamente saranno valutate, seguendo la stessa procedura, le prestazioni meccaniche a fatica degli impianti di ultima generazione. I risultati ottenuti saranno tra loro confrontati.
- Sperimentazione *in vivo*
Si valuterà il processo di osteointegrazione degli impianti di ultima generazione, attraverso l'impianto di quest'ultimi in osso di femore di coniglio in associazione a fattori di crescita. Il grado di osteointegrazione sarà valutato attraverso il caricamento precoce (eseguendo prove di trazione) ed eseguendo un'analisi al SEM.

3.1. Sperimentazione *in vitro*

3.1.1. Materiali e metodi

In questa fase della sperimentazione sono state confrontate le prestazioni meccaniche a fatica di cinque tipi diversi di impianti diffusamente utilizzati nella pratica clinica.

Il primo gruppo è composta da 5 sistemi implantari denominati SPLINE della Sulzer Calcitek, realizzati in lega di titanio (Ti_6Al_4V), filettati, di lunghezza pari a 15 mm e diametro di 3,75 mm (Figura 9).



Figura 9. Impianto di tipo SPLINE

Gli impianti presentano un rivestimento di idrossiapatite MP-1TM, contenente idrossiapatite ad elevata cristallinità. La sovrastruttura è rappresentata da un moncone che presenta un colletto intramucoso di 4 mm e una svasatura di diametro pari a 5,5 mm.

Il secondo gruppo è composto da 5 impianti SCREW-VENT SBM, della Paragon Implant Company in lega di titanio $TiAl_6V_4$, filettati, con trattamento superficiale SVB, eseguito tramite il bombardamento di particelle di diverse dimensioni di fosfato tricalcio per aumentare la

superficie di contatto con l'osso. Questo tipo di trattamento utilizza un mezzo riassorbibile (differentemente da altri tipi di trattamenti che utilizzano mezzi non solubili come ossido di titanio o allumina) quindi, non necessita di trattamenti aggressivi per l'eliminazione di eventuali particelle superficiali residue. La lunghezza dell'impianto è di 13 mm, diametro del tronco di 3,5 mm e diametro della piattaforma di 3,7 mm. La sovrastruttura, di tipo HLA3/4, è di forma troncoconica e lunghezza di 9 mm (Figura 10).



Figura 10. Impianto di tipo SCREW-VENT

Il terzo gruppo è composto da 5 impianti BRANEMARK della Nobel Giocare in titanio CP, filettati, di lunghezza pari a 13 mm e diametro della piattaforma di 3,75 mm (Figura 11). Il moncone superiore ha una struttura troncoconica di lunghezza pari ad 8 mm e diametro maggiore di 6 mm.



Figura 11. Impianto di tipo BRANEMARK

Il quarto gruppo è composto da 5 impianti MICROPLANT della Komet^R, a vite in titanio puro di “grado medico” (secondo le norme ASTM F67 e ISO 5832/II) di lunghezza pari a 9 mm e diametro di 2,5 mm (Figura 12). La vite è autofilettante in modo da penetrare delicatamente nell'osso ed è provvista di una scanalatura antirotazionale. Il rivestimento esterno dell'impianto in idrossiapatite è prodotto per via elettrochimica.



Figura 12. Impianto di tipo MICROPLANT

Il quinto gruppo è composto da 5 impianti ITI-Straumann di titanio commercialmente puro di grado medico (secondo la ISO 5832/II). Gli impianti selezionati sono del tipo a vite piena, hanno un diametro di 4,1 mm e una lunghezza di 10,0 mm, dimensioni ideali per il trattamento di pazienti con edentulia parziale o totale e larghezza della cresta ossea di almeno 5,5 mm (Figura 13).



Figura 13. Impianto SLA

Il motivo per il quale gli SLA sono oggetto di questa sperimentazione è conseguente al tipo di trattamento superficiale subito dall'impianto durante la fase di produzione, che prevede la sabbiatura con sabbia a grana grossa, costituita da particelle di allumina di varie dimensioni, e la mordenzatura con acido. Questo tipo di trattamento superficiale crea uno strato macrorugoso dovuto alla sabbiatura, mentre l'azione dell'acido provoca la formazione di microalveoli. Questa particolare conformazione superficiale presenta un coefficiente di rugosità (R_a) pari a 2 μm e una spaziatura tra picchi adiacenti (S) di circa 12 μm ; il trattamento superficiale eseguito con acido crea delle microembriature di 1-2 μm .

Questo trattamento è stato sviluppato allo scopo di favorire, ulteriormente, l'osteointegrazione, e in particolare la stabilità primaria, in relazione alla quale è possibile prevedere il successo a lungo termine del trattamento implantare.

Tutti gli impianti sono stati inseriti in blocchetti ottenuti con uno speciale cemento osseo, in accordo con la specifica ISO 5833/1-1979. Tale cemento è un materiale autoindurente a base di polimetilmetacrilato, radiopaco a presa rapida, usato anche in chirurgia ortopedica, che è fornito in due componenti: una polvere contenente un copolimero metilmetacrilato-metacrilato, biossido di zirconio e perossido di benzoile (iniziatore), e un liquido contenente metilmetacrilato e N-dimetil-p-toluidina (acceleratore). I blocchetti di cemento sono stati realizzati con uno stampo in teflon a forma troncoconica di circa 20 mm di altezza e 20 mm di diametro esterno. Questo stampo è munito di una base estraibile che consente l'estrazione del blocchetto. L'impianto è fatto sporgere per permettere il serraggio della sovrastruttura, dalla cui corretta esecuzione deriverà la stabilità dell'impianto durante le prove (Figura 14).



Figura 14. Esempio di blocchetto in cemento per osso nel quale è inserita la *fixture*

Per effettuare le prove dinamiche a fatica ci si è ispirati ad una bozza di normativa europea, ISO/SC 8/WG 3, sviluppata appositamente per verificare la resistenza a fatica e la durabilità di un singolo impianto endosseo, associato con la propria sovrastruttura, con dei test standard cui deve essere sottoposto il sistema implantare, prima dell'immissione in commercio in ambito europeo.

Per eseguire le prove si utilizza una macchina servoidraulica per prove dinamiche a fatica, dotata di una cella di carico cilindrica che esercita sul campione il carico desiderato attraverso un punzone di raggio $R = 0,5$ mm. Il campione è immobilizzato all'interno di un blocchetto in cemento osseo bicomponente, caratterizzato dalle stesse proprietà meccaniche dei campioni da testare, in accordo con la normativa ISO 5833/1-1979; successivamente i campioni sono posizionati sugli afferraggi in modo da risultare inclinati di 15° (Figura 15). Le prove, indicate nella normativa, prevedono l'applicazione di un carico dinamico sinusoidale (F) con frequenza pari a 2Hz. I valori iniziali applicati sono di 15 N e 140 N a compressione; il campione è analizzato visivamente dopo 200000 cicli. Se l'impianto non presenta difetti visibili, cricche o fratture, si incrementa il carico di 50 N, mantenendo il rapporto tra F_{MAX}/F_{MIN} pari a 10, e si sottopone ad ulteriori 200000 cicli. La terza e ultima parte del test prevede l'applicazione progressiva del carico, fino ad un massimo di 340 N.

Per eseguire le prove dinamiche a fatica è stata utilizzata la macchina pneumatica SP-2 della LLOYD Instruments, con capacità massima di 2 kN, ideale nella determinazione delle proprietà di resistenza a fatica di un campione attraverso l'esecuzione di test ciclici con una frequenza massima di 40 Hz. La macchina è costituita da due colonne in acciaio lungo le quali scorre l'attuatore servo-pneumatico, posizionato trasversalmente rispetto ad esse, alla cui base è posizionata la cella di carico di 5 kN. La posizione dell'attuatore è stabilita prima dell'inizio della prova, in base alle dimensioni del campione, immobilizzato per mezzo di afferraggi, costruito secondo le specifiche della normativa. Il sistema è controllato da un computer attraverso un software, per i test dinamici contenente, al suo interno, un processore e un controllore digitale che assicurano la continuità del test, anche in assenza del computer stesso. Per l'analisi dei dati, acquisiti durante la prova, è utilizzato un altro software, il NEXYGENTM. Per garantire la sicurezza durante l'esecuzione delle prove, la macchina è dotata di un dispositivo regolabile che previene eventuali cedimenti dell'attuatore durante i posizionamenti e di un interruttore di emergenza montato sulla larga base. La macchina utilizza aria compressa per dissipare il calore generato durante le prove di lunga durata.

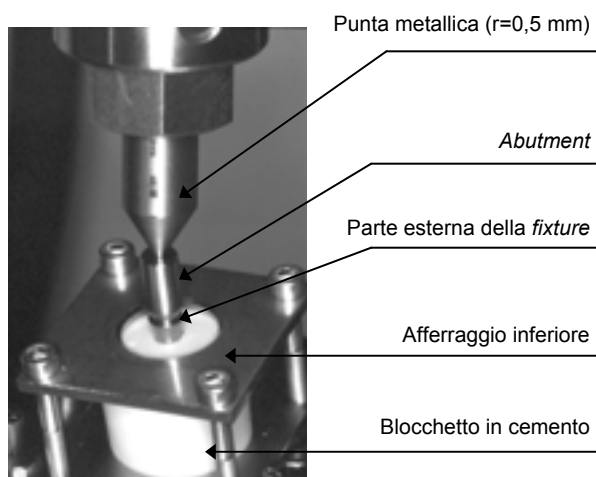


Figura 15. Sistema di afferraggi realizzati per effettuare le prove meccaniche a fatica

3.1.2. Risultati

3.1.2.1. Prestazioni meccaniche

Tutti i campioni sono stati sottoposti a prova dinamica a fatica: tra uno step e il successivo, ogni campione è stato analizzato visivamente allo scopo di individuare eventuali allentamenti del sistema *fixture-abutment*. Dall'analisi visiva non è emerso alcun allentamento del sistema impiantare né sono state riscontrate flessioni dell'asse del sistema.

3.1.2.2. Analisi ultrastrutturale

Per tutti i campioni sono state eseguite analisi al SEM, al fine di individuare eventuali alterazioni della struttura superficiale.

Come controllo si esegue l'analisi microstrutturale, con il SEM, di un campione, per ogni tipo di impianto, non sottoposto ad alcuna prova dinamica, allo scopo di avere un quadro di riferimento per la successiva comparazione con le osservazioni che saranno eseguite sui campioni dopo la prova dinamica a fatica.

Le osservazioni SEM eseguite su tutti gli impianti tradizionali sottoposti a prove dinamiche a fatica, non presentano alterazioni della struttura superficiale, microcricche o danneggiamenti del rivestimento superficiale, dove presente. Le immagini di seguito mostrano micrografie a due ingrandimenti (20x e 1000x) (Figure 16-19).

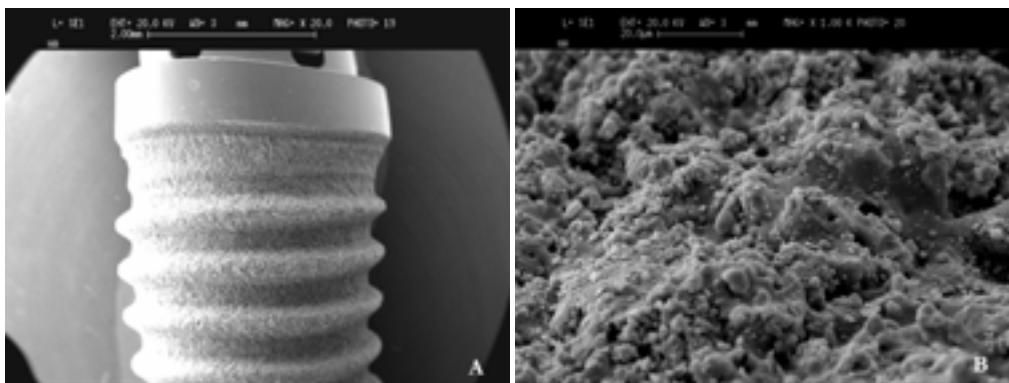


Figura 16. Micrografie SEM di un impianto SPLINE a due ingrandimenti 20x (A) e 1000x (B)

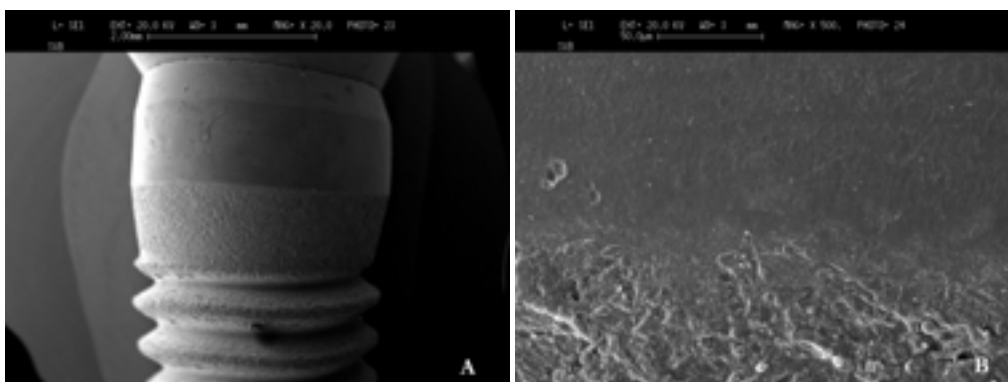


Figura 17. Micrografie SEM di un impianto SCREW-VENT a due ingrandimenti 20x (A) e 1000x (B)

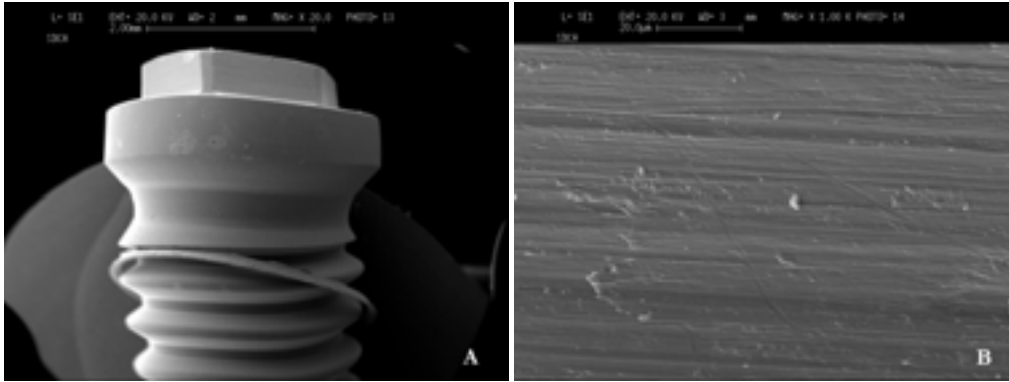


Figura 18. Micrografie SEM di un impianto BRANEMARK a due ingrandimenti 20x (A) e 1000x (B)

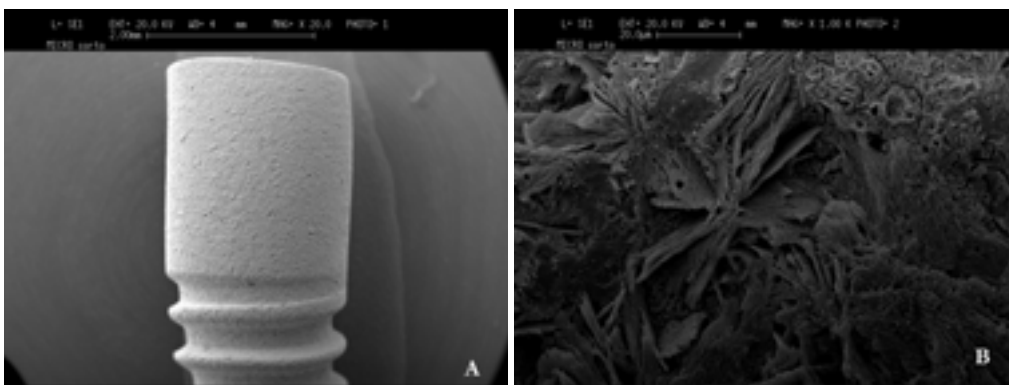


Figura 19. Micrografie SEM di un impianto MICROPLANT a due ingrandimenti 20x (A) e 1000x (B)

Tutti gli impianti di ultima generazione (SLA), dopo la prova dinamica a fatica, sono stati sottoposti ad indagine microstrutturale e le micrografie SEM ottenute sono state confrontate con quelle eseguite per il campione di controllo. Gli SLA, come gli impianti tradizionali, non presentano alterazioni della struttura superficiale né microcricche esterne (Figura 20).

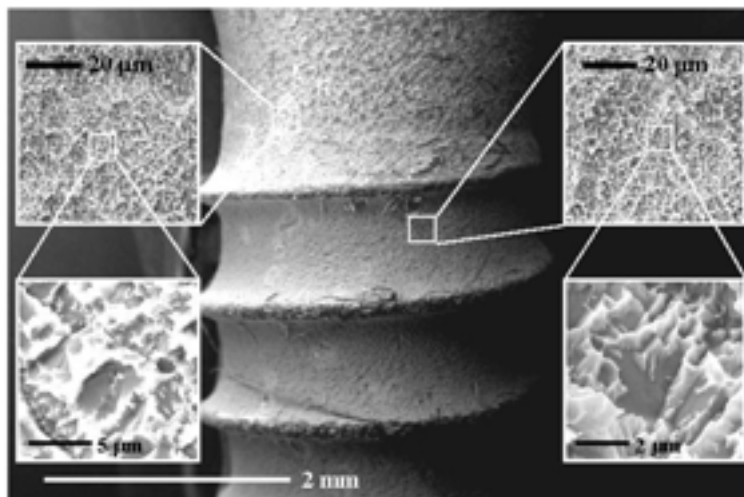


Figura 20. Micrografie SEM a vari ingrandimenti della *fixture* di un impianto SLA

3.1.3. Discussione

Gli impianti dentali analizzati nella sperimentazione e sottoposti a prove meccaniche a fatica, non hanno riportato alterazioni strutturali e superficiali, rispetto ai relativi campioni di controllo, nonostante i valori della sollecitazione, cui sono stati sottoposti.

Per quanto riguarda la risposta alle sollecitazioni dinamiche dell'insieme cemento-impianto, con angolazione di 15°, non si è riscontrato alcuno spostamento assiale, né si sono verificati allentamenti dell'insieme *fixture-abutment*.

I risultati ottenuti possono portare a diverse conclusioni. Confermano la validità degli impianti, in uso da anni nella pratica clinica. Dimostrano che gli impianti SLA, ultima innovazione nel campo dell'implantologia odontoiatrica, soddisfano le prestazioni di resistenza meccanica richieste dalla bozza di normativa europea.

L'assenza di cedimenti o allentamenti di *abutment* e *fixture* presuppone il mantenimento dell'asetticità di questa interfaccia, in un ambiente orale mantenuto igienicamente pulito.

Il protocollo di prove a fatica, applicato a tutti gli impianti testati, è stato ispirato da una bozza di normativa CE che risultava una procedura severa per valutare ulteriormente il rispetto dei requisiti essenziali di tali dispositivi impiantabili.

3.2. Sperimentazione *in vivo*

3.2.1. Materiali e metodi

Quest'analisi sperimentale si propone di valutare il grado di osteointegrazione raggiunto da impianti con superficie sabbiata e mordenzata (SLA), inseriti su osso di femore di coniglio, attraverso la misurazione del carico massimo di estrazione.

Nello specifico si verificherà il comportamento di impianti, con superficie in SLA, sottoposti a prove meccaniche statiche di trazione, al fine di poter costatare l'effettiva osteointegrazione. Una parte dei campioni sarà impiantata con l'aggiunta di fattori di crescita, che hanno lo scopo di favorire la rigenerazione ossea. Successivamente i campioni saranno osservati allo stereomicroscopio Zeiss, per determinare quale sia l'orientazione più indicativa da analizzare e per valutare come fissare ogni campione sullo *stub* prima di ricoprirlo di una lamina d'oro con l'utilizzo di una macchina, la Balzer SCD 040 che esegue lo *sputtering*. Con l'ausilio del SEM Cambridge Stereoscan 360, sarà eseguita l'analisi ultrastrutturale.

Per la sperimentazione sono stati provati impianti endossei ITI-Straumann, a due componenti, transgingivali, realizzati in titanio commercialmente puro di grado 4, con superficie trattata con particelle di allumina a grana grossa e sottoposta ad attacco acido (SLA). Gli impianti ITI a vite piena hanno un diametro di 3,3 mm e una lunghezza di 8 mm (superficie laterale dell'impianto pari a 82,9 mm²), dimensioni ideali in caso di larghezza crestale ridotta (5-6 mm).

La sperimentazione *in vivo* ha previsto l'inserimento di 9 impianti distribuiti rispettivamente su ossa di femore di 5 conigli: 5 impianti sono stati inseriti in associazione a fattori di crescita, mentre i restanti 4 sono utilizzati come controlli.

La tecnica chirurgica adottata è stata specificata direttamente dalla casa produttrice degli impianti, che ha indicato anche la strumentazione necessaria. Affinché sia raggiunta una buona integrazione degli impianti, è indispensabile che sia i tessuti molli sia i tessuti duri siano trattati con molta cura. Il trauma termico che inevitabilmente subiscono i tessuti, deve essere ridotto al minimo, in modo da non compromettere o impedire l'integrazione dell'impianto dentale. È,

perciò, necessario ridurre il più possibile lo sviluppo di calore osservando le seguenti indicazioni:

- le frese non devono superare le velocità consigliate: ca. 800 min⁻¹ per frese con diametro di 2,2 mm, e ca. 600 min⁻¹ per frese con diametro di 2,8 mm.
- utilizzo di frese taglienti (al massimo per 10 preparazioni).
- drenaggio intermittente.
- irrigazione interna/esterna delle frese con soluzione fisiologica sterile (NaCl) o soluzione Ringer raffreddata a 5 °C.
- utilizzo di frese con diametri successivamente maggiori (2,2 mm /2,8 mm).

La preparazione del sito implantare per gli impianti ITI, è stata eseguita nella porzione corticale di osso femorale di coniglio. Per 5 impianti, prima che sia inserita la *fixture* si inietta un gel di metilcellulosa contenente PDGF e IGF nella combinazione:

PDGF + IGF 4 µg/10 µl in “Methocel” 100 µl

I restanti 4 impianti ITI di controllo, sono inseriti nel sito implantare in associazione al solo gel di metilcellulosa (methocel 100 µl).

Dopo aver inserito fattori di crescita e *fixture*, prima di adattare i tessuti molli, si sceglie la vite di guarigione idonea e la si avvita nell’impianto. Si procede con la sutura dei lembi con punti in materiale atraumatico, evitando di esercitare una tensione eccessiva. Si esegue la sutura su entrambi i lati della vite di guarigione per garantire un adattamento dei lembi attorno alla vite, privo di tensione.

Dopo 12 giorni i conigli sono sacrificati e i femori prelevati e conservati in soluzione fisiologica. Il passo successivo prevede il sezionamento dell’osso, utilizzando delle frese, in modo da isolare ogni impianto (Figura 21). Dopo il sezionamento ogni blocco osso-impianto è inserito in blocchetti di resina acrilica, bicomponente, autopolimerizzante ad elevata resistenza all’abrasione e ai carichi masticatori.



Figura 21. Isolamento dell’osso di femore di coniglio e sezionamento dell’osso

I blocchetti sono realizzati con uno stampo in teflon a forma troncoconica di circa 20 mm di altezza e 20 mm di diametro (esterno). Poiché il sistema osso-impianto deve essere posto in asse, si avvita l’afferraggio, che si utilizzerà per l’estrazione, alla *fixture* e si abbassa all’interno dello stampo. Successivamente si inserisce la resina nello stampo.

Lo stampo è dotato di una base estraibile attraverso il movimento di una vite, per facilitare l’estrazione del sistema resina-osso-impianto, dopo la reazione di indurimento per polimerizzazione (Figura 22).



Figura 22. Estrazione del blocco resina-osso-impianto

Dopo aver eseguito il procedimento descritto per ogni impianto, il passo successivo sarà quello di sottoporre ogni campione ad una prova di trazione, per confrontare le caratteristiche meccaniche dei sistemi osso-impianto in associazione a fattori di crescita con le caratteristiche dei campioni di controllo.

Per effettuare la sperimentazione meccanica di estrazione di impianti di tipo SLA dall'osso di femore di coniglio è stata utilizzata una macchina per prove statiche della LLOYD Instruments, modello LR30K, equipaggiata con una cella di carico di 500 N e munita di afferraggi realizzati e costruiti appositamente per questo tipo di prove. La macchina LR30K, è utilizzata per testare staticamente materiali, sia a trazione che a compressione fino a 30 kN. Il controllo avviene attraverso un microprocessore che opera da una console integrata che consente un utilizzo veloce e facile, e che presenta un display che mostra l'andamento del test. In associazione alla macchina è fornito anche un software per l'analisi dei materiali, il NEXYGEN™ MT, contenente un'ampia libreria di parametri relativi a test preconfigurati eseguiti in riferimento a standard internazionali.

Per l'esecuzione della prova di trazione, oggetto della nostra sperimentazione, i blocchetti in resina sono stati fissati alla macchina tramite degli afferraggi appositamente realizzati. L'afferraggio superiore è costituito da un punzone metallico con la punta filettata, come l'interno dell'impianto SLA, mentre l'afferraggio inferiore è costituito da una pinza, realizzata appositamente per trattenere il blocco in resina in cui è inglobato l'osso (Figura 23).



Figura 23. Afferraggi inferiore e superiore che fissano il blocchetto in resina per la prova di trazione, al fine di determinare il distacco dell'impianto dall'osso

La velocità di separazione degli afferraggi è stata impostata uguale a 1,00 mm/min. La macchina si blocca automaticamente, interrompendo la prova, nel momento in cui si ha il distacco dell'impianto dall'osso.

3.2.2. Risultati

3.2.2.1. Prestazioni meccaniche

La prova di trazione è stata eseguita per tutti i campioni impiantati in osso di femore di coniglio (peso medio di 2,7 kg). In Tabella 2 è indicato il valore dello sforzo di taglio al distacco dell'impianto dall'osso.

Tabella 2. Prestazioni meccaniche Interfaccia Osso-Impianto

| CONIGLI | Impianto | Sforzo al distacco (MPa) |
|------------|---------------------------|--------------------------|
| Coniglio 1 | con fattori di crescita | 2,7 ± 1% fondo scala |
| Coniglio 2 | con fattori di crescita | 1,8± 1% fondo scala |
| Coniglio 3 | senza fattori di crescita | 3,7± 1% fondo scala |
| Coniglio 4 | senza fattori di crescita | 1,5± 1% fondo scala |
| Coniglio 4 | senza fattori di crescita | 2,8± 1% fondo scala |
| Coniglio 4 | con fattori di crescita | 3,2± 1% fondo scala |
| Coniglio 5 | senza fattori di crescita | 2,2± 1% fondo scala |
| Coniglio 5 | con fattori di crescita | 0,6± 1% fondo scala |
| Coniglio 5 | con fattori di crescita | 2,8± 1% fondo scala |

I valori medi e, le relative deviazioni standard, dello sforzo di taglio che si ottiene per il distacco dell'impianto dall'osso, sono riportati nella Tabella 3.

Tabella 3. Analisi statistica

| Gruppo | Sforzo di taglio medio (MPa) | Deviazione standard (±MPa) |
|--------------------------|------------------------------|----------------------------|
| Impianti inseriti con GF | 2,2 | 1,0 |
| Impianti di controllo | 2,6 | 0,9 |

Eseguendo un'analisi della varianza ad una via (ANOVA) sulle serie di dati ottenute, non sono state riscontrate differenze statistiche rilevanti. Infatti, questo tipo di analisi statistica, utilizzata in campo medico e biologico nel caso in cui il numero dei campioni analizzati non è elevato (minimo cinque campioni), considera il valore di un parametro di riferimento (p) in base al quale stabilisce se la differenza statistica tra i gruppi analizzati è molto significativa ($p < 0,001$), significativa ($0,001 < p < 0,05$) o non significativa ($p >> 0,05$) (22). Nel nostro caso si ottiene un valore di $p = 0,630$, da cui si deduce che l'utilizzo dei fattori di crescita non influenza il valore dello sforzo di taglio al distacco dell'impianto dall'osso. Notiamo, infatti, che i valori medi dello sforzo di taglio a trazione, tra i due gruppi, sono poco discordanti tra loro.

Dai risultati ottenuti si può concludere che, nella prima fase di cicatrizzazione, la ritenzione meccanica è dovuta principalmente alla conformazione geometrica dell'impianto (quindi alla filettatura), piuttosto che all'osteointegrazione tra osso e impianto.

3.2.2.2. Analisi ultrastrutturale

L'indagine di tipo meccanico è stata, successivamente, completata da quella strutturale con l'ausilio del microscopio elettronico a scansione.

Dalle osservazioni, eseguite al SEM, emerge che tutti i campioni del gruppo testato sono caratterizzati da una struttura superficiale simile. Dall'analisi ultrastrutturale, possiamo osservare che, sia le superfici delle *fixture* di controllo sia quelle dei campioni della sperimentazione, presentano uno strato continuo di tessuto neoformato, tuttavia, le *fixture* impiantate in associazione a fattori di crescita evidenziano un aumento notevole di tessuto rigenerato, osservabile tramite la presenza di architetture tissutali più complesse (Figura 24).

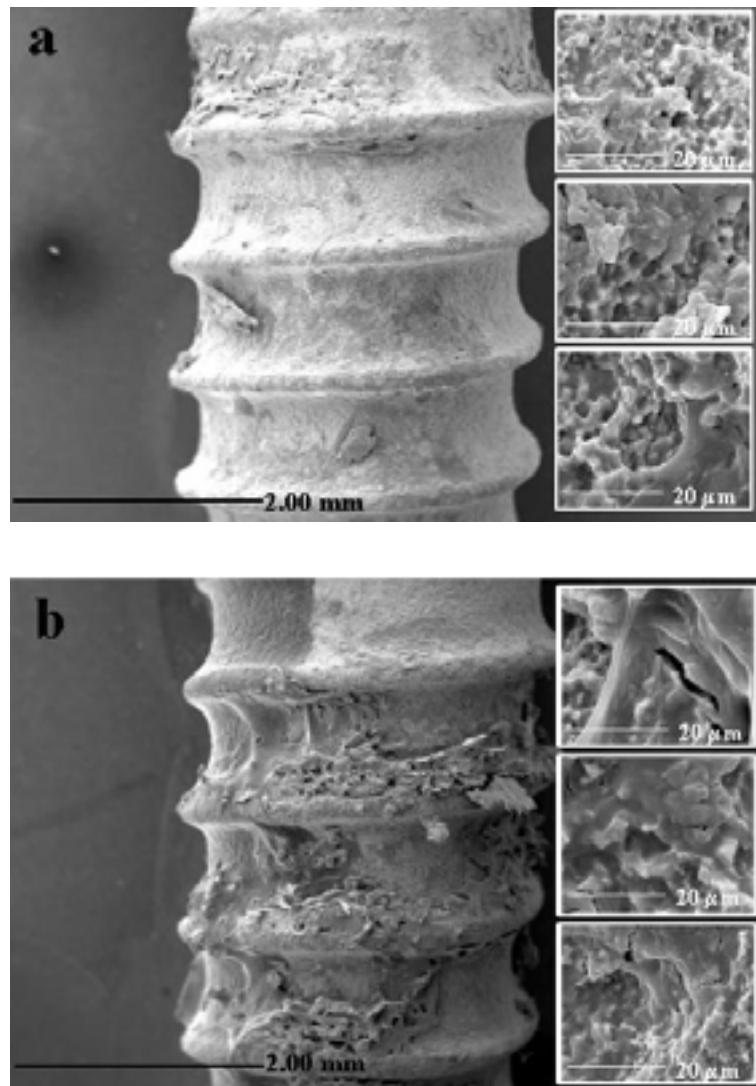


Figura 24. Micrografia SEM della *fixture* impiantata senza fattori di crescita (a) e in associazione a fattori di crescita (b)

3.2.2.3. Analisi istologica

La sperimentazione si è conclusa con l'inserimento di una vite di guarigione (vite del moncone) nell'osso del femore di coniglio in associazione ai fattori di crescita già utilizzati per l'inserimento delle *fixture*. Lo scopo di questa analisi è quello di valutare la qualità del tessuto che si rigenera all'interfaccia vite-osso, dopo un periodo di 12 giorni. L'elevato costo degli impianti SLA e la scarsa disponibilità dei campioni ha determinato la scelta di utilizzare, per questo tipo di analisi, la sola vite tappo (piuttosto che la relativa *fixture*), la cui filettatura simula quella presente sulla *fixture* stessa.

Nella Figura 25a è evidenziata l'abbondante ossificazione attorno alla vite e in Figura 25b si evidenzia, lungo il passo della vite, tessuto condroide (TC) che matura in tessuto osseo (TO) a fibre intrecciate (in direzione dx→sx).

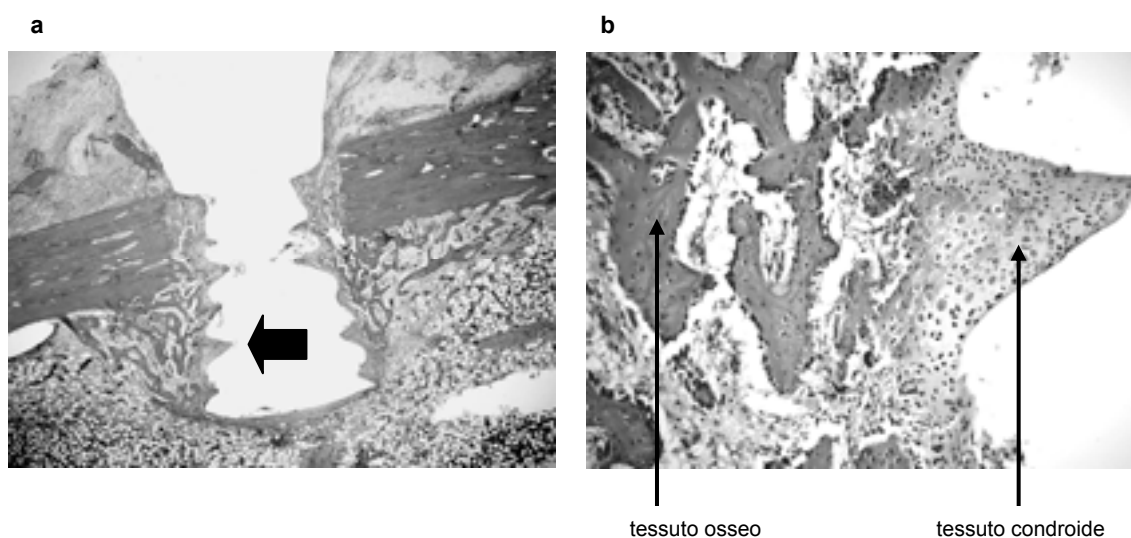


Figura 25. Visione generale della vite di guarigione dopo 12 giorni (a) e particolare della vite (b)

3.2.3. Discussione

Il presente studio ha previsto l'inserimento di impianti in titanio sabbato e mordenzato (SLA) in osso di femore di coniglio, in associazione ad una combinazione di fattori di crescita, PDGF e IGF-I; contemporaneamente, sono stati inseriti impianti, senza alcun fattore di crescita, utilizzati come controlli, in modo da poter confrontare i risultati ottenuti.

Dalle prove meccaniche non si evidenziano grandi differenze di valori tra i campioni impiantati con fattori di crescita e i campioni di controllo: questo è dovuto, probabilmente, al tipo di conformazione geometrica dell'impianto. Infatti, quando si esegue la prova estrazione dell'impianto dall'osso, l'elemento che esercita maggior ritenzione è la filettatura. Da questo risultato non si evidenzerebbero i vantaggi dell'utilizzo dei fattori di crescita. Tuttavia, dalle osservazioni al SEM, emerge che l'applicazione *in vivo* della combinazione di PDGF e IGF-I, promuove la rigenerazione ossea attorno alla *fixture*, in particolare, durante la prima fase di cicatrizzazione. Infatti, dopo 12 giorni dall'inserimento degli impianti, quelli trattati con i fattori di crescita presentano una percentuale di osso a contatto con la *fixture* maggiore, rispetto a quello presente sui campioni di controllo. L'apposizione ossea iniziale, definita stabilità

primaria, è fondamentale in previsione della successiva stabilità secondaria dell'impianto, che assicura il successo a lungo termine del trattamento.

La conferma che il tessuto presente all'interfaccia tra impianto e osso è effettivamente tessuto osseo è fornita dall'analisi istologica eseguita su viti di guarigione, inserite in osso di femore di coniglio, sempre in associazione a fattori di crescita (gli stessi utilizzati per gli SLA). Dalle immagine istologiche, emerge che i fattori di crescita sono in grado di stimolare la ricrescita ossea su una superficie in titanio, filettata ma che non ha subito trattamenti superficiali che ne aumentano la rugosità.

L'applicazione dei fattori di crescita, nel sito implantare, stimola, quindi, la formazione di osso trabecolare a densità maggiore, condizione necessaria dal momento che la maggior parte dei fallimenti, nei trattamenti implantari, sono dovuti alla scarsa qualità dell'osso (bassa densità ossea, presenza di molte cavità ossee, ecc.). Presumibilmente, la perdita degli impianti è dovuta alla scarsa stabilità primaria, a sua volta determinata dalla bassa densità ossea, da cui deriva una inadeguata stabilità secondaria. Conseguentemente, l'utilizzo dei fattori di crescita, agendo sulla rigenerazione ossea, può favorire una prognosi favorevole del trattamento implantare.

CONCLUSIONI

Nella prima parte della sperimentazione è stata eseguita la comparazione delle prestazioni meccaniche a fatica di cinque diversi tipi di impianti, diffusamente usati nella pratica clinica, secondo le specifiche indicate dalla bozza di normativa europea ISO/SC 8/WG 3. Ciò che differenzia gli impianti tra loro, oltre che il materiale che li costituisce (Ti CP di grado medico o lega $TiAl_6V_4$), è l'eventuale trattamento superficiale che questi hanno subito durante la fase di produzione. In particolare si è voluto valutare il comportamento di impianti SLA, la cui innovazione è rappresentata dal trattamento superficiale, che prevede la sabbiatura e la successiva mordenzatura con acido, sviluppato allo scopo di favorire, ulteriormente, l'osteointegrazione, e in particolare la stabilità primaria, in relazione alla quale è possibile prevedere il successo a lungo termine della terapia implantare. L'esecuzione delle prove meccaniche a fatica ha lo scopo di verificare la resistenza a fatica e la durabilità del singolo impianto endosseo, associato alla propria sovrastruttura; la successiva analisi ultrastrutturale ha lo scopo di individuare eventuali alterazioni della superficie implantare causate dalla sollecitazione dinamica a fatica. Dai risultati ottenuti è emerso che gli impianti SLA, così come gli altri, rispettano le specifiche indicate dalla normativa; dall'analisi visiva non emergono flessioni del sistema implantare né allentamenti tra il corpo implantare e la relativa sovrastruttura. Dalle osservazioni al SEM, confrontando le micrografie dei campioni testati con quelle dei campioni di controllo, non sono emerse alterazioni superficiali, o microcricche. Questi risultati confermano la validità di tutti gli impianti e rappresentano la base per la sperimentazione *in vivo* che è successivamente stata affrontata.

Valutate le prestazioni meccaniche degli impianti SLA, è stata affrontata la sperimentazione *in vivo* che ha previsto l'inserimento degli impianti SLA in osso di femore di coniglio, in presenza o meno (campioni di controllo) dei fattori di crescita. Lo scopo è quello di valutare l'efficacia dell'innovativo trattamento superficiale e dei fattori di crescita, durante il processo di osteointegrazione. Tale processo è valutato per mezzo dell'esecuzione di prove a trazione, a 12 giorni dall'inserimento in osso degli impianti, ed effettuando l'osservazione al SEM. La qualità del tessuto rigenerato è valutata eseguendo l'analisi istologica. Per questa sperimentazione sono stati utilizzati nove impianti di tipo SLA; utilizzando la stessa tecnica chirurgica, cinque sono stati impiantati in associazione ad un complesso di fattori di crescita costituito da PDGF e IGF-I, mentre i restanti sono impiantati senza fattori di crescita e utilizzati come controlli. Dopo un periodo di 12 giorni, i conigli sono stati sacrificati, gli impianti isolati e preparati per essere sottoposti a prova a trazione, volta a determinare il distacco del corpo dell'impianto dall'osso, al fine di determinare il grado di ritenzione *fixture*-osso. In questa fase della sperimentazione, è emerso che l'esecuzione di prove statiche a trazione, dopo un periodo così breve, non ha riportato differenze significative nei valori dello sforzo di taglio al distacco, ottenuti per i campioni impiantati con fattori di crescita, rispetto a quelli ottenuti per i campioni impiantati senza fattori di crescita. Questo risultato è giustificato dal fatto che il contributo maggiore alla ritenzione meccanica è dato, principalmente, dalla conformazione geometrica dell'impianto (in particolare dalla filettatura), mentre quello fornito dalla ritenzione osso-impianto, risulta trascurabile. Tuttavia, dalla successiva analisi ultrastrutturale al SEM, risulta che le micrografie degli impianti SLA, inseriti in associazione a fattori di crescita, presentano la neoformazione di strutture tissutali molto più complesse, rispetto a quelle presenti sulla superficie dei campioni di controllo. I risultati ottenuti dall'analisi istologica confermano che il tessuto generato all'interfaccia *fixture*-osso è, effettivamente, tessuto osseo neoformato e tessuto condroide che matura in tessuto osseo. Questo fatto è importante se si pensa che l'incremento della ricrescita

ossea favorisce la stabilità primaria (impedendo micromovimenti dell'impianto), fattore alla base di un affidabile successo a lungo termine della terapia. Inoltre, il risultato ottenuto rappresenta un punto di partenza per la risoluzione degli effetti collaterali presenti, soprattutto, quando le condizioni del sito di impianto sono sfavorevoli, a causa di una bassa densità ossea o di uno scarso spessore osseo.

BIBLIOGRAFIA

1. Branemark PI, Breine U, Adell R, Hansson Bo, Lindstrom J, Ohlsson A. Intra-osseous anchorage of dental prostheses I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1969;3:81-100.
2. Branemark PI, Hansson B, Adell R, Breine U, Lindstrom J, Hallen O, Ohman A. Osseointegrated implants in the treatment of edentulous jaw: Experience from a 10 year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl* 1977;16:1-132. .
3. Schroeder A, Van der Zypen E, Stich H, Sutter F. The reaction of bone, connective tissue and epithelium to endosteal implants with sprayed titanium surfaces. *J Maxillofac Surg* 1981;9:15-25.
4. Buser D, Meriscke-Stern R, Bernard JP, Behneke A, Behneke N, Hirt HP, Belser UC, Lang NP. Long-term evaluation of non-submerged ITI implants. Part I: 8 year life table analysis of a prospective multi-center study with 2359 implants. *Clin Oral Implants Research* 1997;8:161-72.
5. Buser D, Meriscke-Stern R, Dula K, Lang NP. Clinical experience with one-stage, non-submerged dental implants. *Ad Dental Res* 1999;13:153-61.
6. Wills DJ, Piction DCA, Davies WIR. A study of the fluid system of the periodontism in macaque monkeys. *Arch Oral Bio* 1976;21-175.
7. Carlsson L, Rostlund T, Albrektsson B, Albrektsson T. Removal torques for polished and rough titanium implants. *Int J Maxillofac Impl* 1988;3:21-4.
8. Menghini P, Battaini P. *Metallurgia in odontoiatria*. Milano: Masson; 1997.
9. Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE. *Biomaterials science. An introduction to materials in medicine*. London: Elsevier, Academic Press; 1996.
10. Smith WF. *Scienza e tecnologia dei materiali*. New York: Mc Graw-Hill; 1995.
11. Pilliar RM. Overview of surface variability of metallic endosseous dental implants: textured and porous surface-structured designs. *Impl Dentistry* 1998;7(4):305-12.
12. Pacagnella R, Pellegrini G. Tornitura a secco: una possibile alternativa. *Rivista di Meccanica Oggi* 2003;62:76-80.
13. Brunette DM. The effects of implant surface topography on the behavior of cells. *Int J Oral Maxillofac Impl* 1988;3:231-46.
14. Smith DC, Pilliar RM, Metson JB, McIntyre NS. Dental implant materials. II. Preparative procedures and surface spectroscopic studies. *J Biomed Mater Res* 1991;25(9):1069-84.
15. Bowers KT, Keler JC, Randolph BA, Wick DG, Michaels CM. Optimization of surface micromorphology for enhanced osteoblast responses in vitro. *Int J Oral Maxillofac Impl* 1992;7:302-10.
16. Pasqualino A, Nesci E. *Anatomia umana fondamentale*. Torino: UTET Editore; 1980
17. De Santis E, Fadda M, Gasparini G, Rosa MA. *Interazione osso-protesi. Aspetti di istofisiopatologia*. Sassari: Università degli Studi di Sassari; 1994.
18. Bianchi A. *Implantologia ed implantoprotesi*. Torino: UTET Editore; 2000.
19. Lekholm U, Zarb GA. Tissue integrated prostheses: osseointegration in clinical dentistry. Chicago: Branemark, Zarb & Albrektsson Eds.; 1985.
20. Adell R, Lekholm U, Rockler B, Brånemark P-I, Lindhe J, Eriksson B, Sbordone L. Marginal tissue reactions at osseointegrated titanium fixtures (I). A 3-year longitudinal prospective study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1986;15:39-52.
21. Eriksson RA, Adell R. Temperature during drilling for the placement of implants using the osseointegration technique. *J Oral Maxillofac Surg* 1986;44:4-7.
22. Glantz SA. *Statistica per discipline bio-mediche*. New York: McGraw-Hill; 2002.

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.*

*Stampato da Ditta Grafiche Chicca & C. snc
Via di Villa Braschi 143, 00019 Tivoli (Roma)*

Roma, marzo 2004 (n. 1) 2° Suppl.