

I fattori di crescita piastrinici e i concentrated growth factors

Platelet-derived growth factors and concentrated growth factors

Andrea Forabosco , Sergio Spinato , Giovanna Garuti , Eleonora Forabosco e Ugo Consolo 11 Dicembre 2017

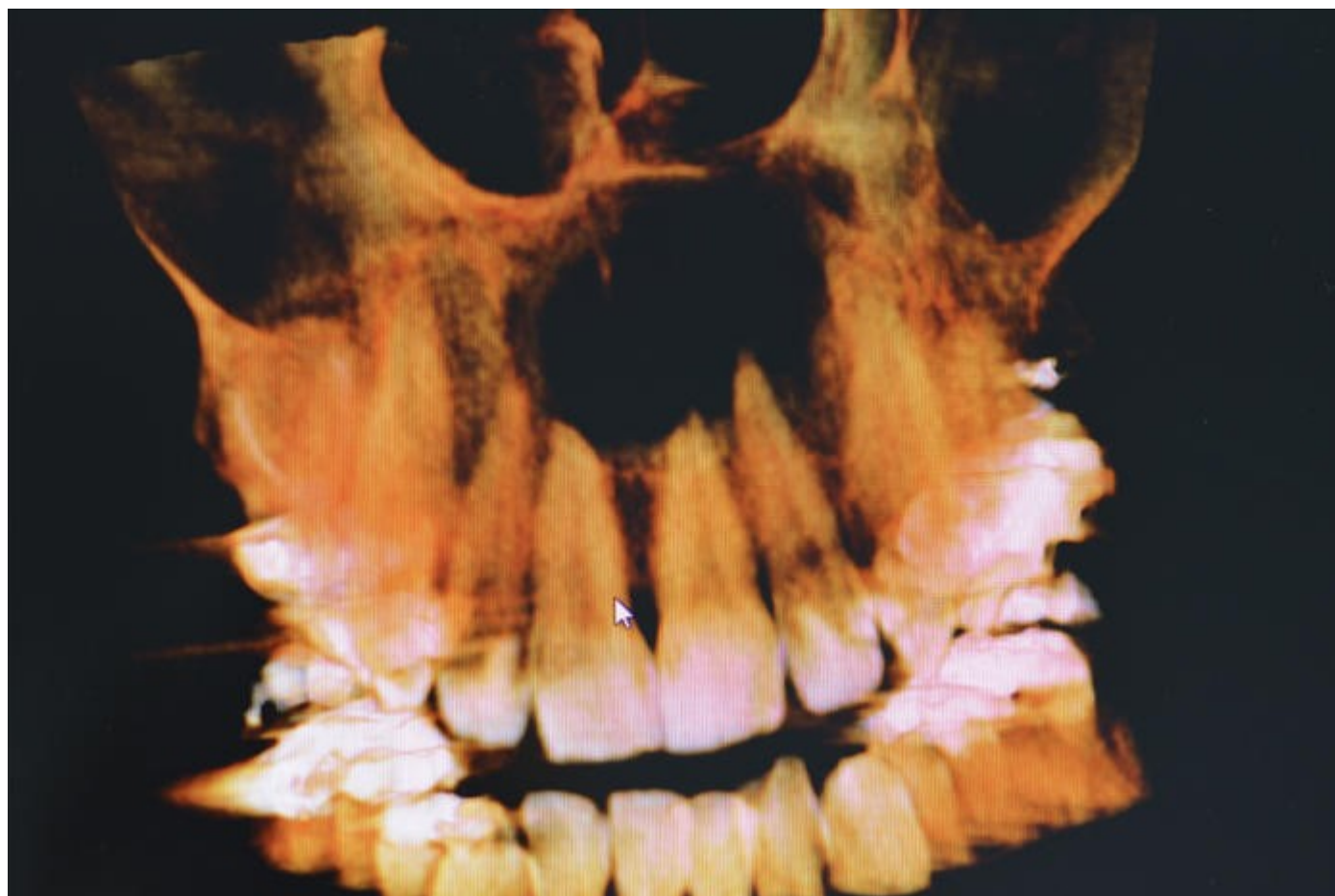


Fig. 5 Ampia lesione cistica a carico degli incisivi superiori. Questo tipo di cavità si presta bene ad essere trattata con i CGF.

Scopo del lavoro: Scopo del presente lavoro è quello di esaminare le potenzialità rigenerative dei fattori di derivazione piastrinica in odontoiatria.

Materiali e metodi:

Vengono presi in esame i concentrated growth factors (CGF) che solo recentemente sono stati utilizzati nell'ambito della rigenerazione ossea peri-implantare.

Risultati:

Viene valutata la loro efficacia nel migliorare e accelerare la guarigione negli alveoli post-estrattivi, nei difetti parodontali, nei deficit ossei orizzontali e verticali peri-implantari e nelle procedure di rialzo del seno mascellare.

Conclusioni:

Nonostante le incoraggianti premesse, ulteriori studi clinici e istologici saranno necessari per testare l'efficacia dei CGF.

Al giorno d'oggi gli impianti dentali osteointegrati rappresentano un trattamento ben documentato, standardizzato ed altamente predicibile (1). Tuttavia, significativi deficit ossei nelle zone destinate a ricevere l'impianto possono limitare questa procedura. Per questo motivo sono state messe a punto numerose tecniche di rigenerazione ossea come la rigenerazione guidata (GBR), l'osteodistrazione alveolare, le griglie (mesh) in titanio e gli innesti sia a blocco che in forma di particolato (2-3). Queste procedure possono contemplare sia l'inserimento contestuale dell'impianto (tecniche one-stage) che l'inserimento differito in caso di importanti deficit ossei (tecniche two-stage) (4). In letteratura, vengono tuttavia descritti fallimenti precoci e tardivi delle tecniche di rigenerazione e significative complicanze legate alla morbilità del sito donatore e ricevente (2-3). Per ovviare alle sopracitate complicanze e rendere le tecniche rigenerative altamente predicibili, la ricerca si è orientata verso l'uso dei fattori di crescita autologhi come migliore sistema per indurre la rigenerazione tissutale. In questa ottica, sono state messe a punto tecniche per utilizzare il potenziale riparativo del sangue anche in odontoiatria.

Le piastrine del sangue contengono infatti elevate quantità di fattori di crescita: platelet-derived growth factor (PDGF), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) e β 2 (TGF- β 2), fibroblast growth factor (FGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), e l'insulin-like growth factor (IGF), che stimolano la proliferazione cellulare, il rimodellamento della matrice extra-cellulare e l'angiogenesi (5).

Recentemente, sono state messe a punto numerose tecniche in grado di isolare i differenti fattori di crescita dal sangue del paziente. Infatti è noto che non solo le piastrine, ma anche altre cellule del sangue, come eritrociti e leucociti, contengono importanti fattori di crescita come il TGF- β 1 (6).

I primi tentativi di utilizzo di fattori di crescita in odontoiatria risalgono all'introduzione del plasma ricco di piastrine (PRP) (7), del plasma ricco di fattori di crescita (PRGF) (8) e del

plasma ricco di fibrina (PRF) (9). Tuttavia, la loro efficacia non è sempre stata documentata in maniera univoca (10).

Più recentemente sono stati analizzati ed utilizzati in odontoiatria fattori di crescita ricombinanti, inclusi il fattore di crescita ricombinante derivato dalle piastrine umane (rh PDGF-BB) (11-17) e le proteine morfogenetiche dell'osso (BMPs) (18-20).

Il fattore di crescita derivato dalle piastrine (o PDGF, platelet-derived growth factor) è una citochina contenuta nei granuli alfa delle piastrine ematiche e nella matrice ossea che viene liberata in caso di trauma a carico dei tessuti molli e dell'osso. La proteina biologicamente attiva è un dimero composto da due polipeptidi collegati designati A e B. Esistono molte isoforme di PDGF; tre di queste, rilasciate in forma attiva, sono costituite dagli omodimeri AA o BB oppure dall'eterodimero AB. È stata documentata in modo esteso la sua efficacia nel migliorare e accelerare i processi di guarigione delle ferite (21).

Recenti acquisizioni in ingegneria tissutale hanno offerto nuove soluzioni per cercare di rigenerare difetti parodontali e deficit ossei peri-implantari.

In particolare, la forma PDGF-BB ricombinante (rh) ha dimostrato azione chemiotattica e mitogena per gli osteoblasti ed anche angiogenica promuovendo la proliferazione dei capillari all'interno di difetti parodontali innestati con beta- fosfato tricalcico (β -TCP) (14). Risultati clinici eccellenti sono stati ottenuti sia nel trattamento di difetti infra-ossei parodontali che in lesioni delle forcazioni di II grado dei molari; in tutte queste lesioni è stato anche possibile dimostrare istologicamente la rigenerazione del tessuto osseo, del legamento parodontale e del cemento radicolare (11-14). A conferma dell'attendibilità di questi dati, due recentissime revisioni sistematiche della letteratura hanno ribadito che il rhPDGF-BB è altamente efficace nel rigenerare il tessuto parodontale andato perduto a seguito di parodontite (22-23).

Per quanto riguarda la rigenerazione ossea peri-implantare, uno studio istologico condotto sul cane ha dimostrato che l'uso di un fattore di crescita ricombinante derivato dalle piastrine umane (rh) PDGF-BB, assieme ad osso bovino deproteinizzato in blocco e senza l'uso di membrane, può essere efficace nella rigenerazione di importanti difetti ossei verticali. In particolare, è stata dimostrata una intensa attività osteoblastica con significativa rigenerazione ossea anche a contatto degli impianti inseriti. I granuli di osso bovino fungevano da impalcatura per il nuovo osso che li circondava e progressivamente li sostituiva (15).

Anche successivi studi clinici e istologici nell'animale e nell'uomo hanno confermato ciò (16-17). Tuttavia necessitano ulteriori evidenze per poter supportare questi risultati positivi anche nell'ambito della rigenerazione ossea peri-implantare.

MATERIALI E METODI

Recentemente è stato proposto l'utilizzo dei concentrated growth factors (CGF) nell'ambizioso tentativo di utilizzare tutte le potenzialità riparative e rigenerative del sangue e non limitandosi solo all'uso di alcune porzioni, come era stato proposto fino ad ora dagli altri protocolli.

Per questa ragione i concentrated growth factors (CGF) sono stati oggetto di una ricerca (24). In questo studio in vitro è stata dimostrata la presenza di numerosi fattori di crescita come il TGF- β 1 e VEGF sono mediatori dell'angiogenesi in grado di stimolare la proliferazione cellulare, il rimodellamento della matrice e la formazione di nuovi vasi durante il processo di guarigione delle ferite. Inoltre, il TGF- β 1 è una potente sostanza chemiotattica per i fibroblasti, cheratinociti e macrofagi, mentre il VEGF ha azione chemiotattica e mitogena per le cellule endoteliali. Rimane invece ancora da chiarire l'esatto ruolo di un numero di cellule positive al CD34 che potrebbero intervenire nella proliferazione e differenziazione di cellule mesenchimali indifferenziate.

Il CGF viene preparato attraverso la centrifugazione di campioni di sangue venoso del paziente a temperatura costante facendo uso di un particolare dispositivo di centrifugazione (Medifuge, Silfradent srl, Forlì, Italy) simili a quelli utilizzati per isolare il PRP (figure 1-3).

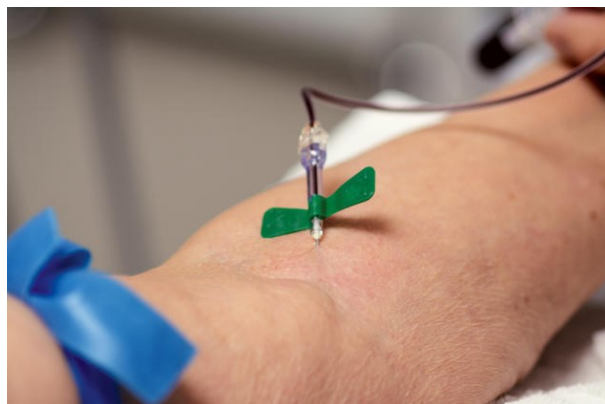


Fig. 1 Prelievo di sangue venoso del paziente usando un ago Butterfly Vacuette di 21 x 3/4 Gauge. *Fig. 2* Il sangue prelevato è posizionato in provette sottovuoto.



Fig. 3 Le provette piene di sangue sono inserite nell'apposito rotore dell'acceleratore centrifugo Medifuge (Silfradent, Forlì, Italia). Notare la loro inclinazione calibrata.

Tuttavia, la diversa velocità di centrifugazione rispetto a questi sistemi (PRP, PRGF e PRF), permette di isolare una matrice di fattori di crescita più ampia e densa.



Fig. 4 Il gel di fibrina ricco di CGF è separato dalla fase rossa ed è preparato per essere trasformato in una membrana. La fase rossa (coagulo) normalmente non viene utilizzata in queste procedure rigenerative.

A seguito del procedimento di centrifugazione (figura 4), è caratteristico osservare tre diverse fasi (o strati):

1. una fase superiore liquida (PPP, platelet poor plasma) costituita dal siero, ossia dal plasma sanguigno senza fibrinogeno e fattori della coagulazione; questa porzione rappresenta la parte più leggera e liquida del sangue. Ha colore giallo paglierino limpido. E'privo di fibrinogeno e scarso di cellule.
2. Una fase intermedia (CGF, concentrated growth factors) composta da un gel ricco di fibrina all'interno del quale sono presenti i CGF come il TGF- β 1 e VEGF.
3. La fase rossa inferiore (RBC, red blood cells) costituita da un coagulo viscoso, denso e ricco di elementi cellulari ematici.

RISULTATI

Le caratteristiche biologiche di ciascuna fase possono essere utilizzate clinicamente:

1. La fase superiore va mantenuta fresca e miscelata rapidamente per non incorrere nella denaturazione delle proteine. Normalmente viene utilizzata per lavare e detergere le cavità ossee da rigenerare.

2. La fase intermedia è costituita da un gel di fibrina. Per il suo notevole volume e ottima resistenza alla trazione potrà essere usato come riempitivo cavitario (figura 5),

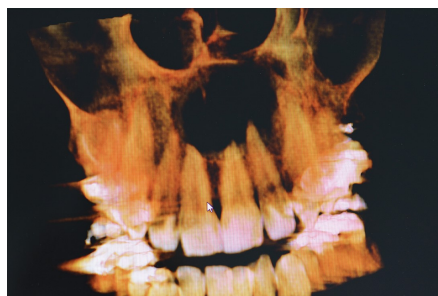


Fig. 5 Ampia lesione cistica a carico degli incisivi superiori. Questo tipo di cavità si presta bene ad essere trattata con i CGF.

per la preparazione di membrane autologhe (Figure 6-7) ed anche come riempitivo da miscelare ad altro materiale da innesto (Figure 8-9). Siccome questa fase contiene i CGF, può essere miscelata direttamente con l'osso autologo per ottenere un innesto estremamente performante.

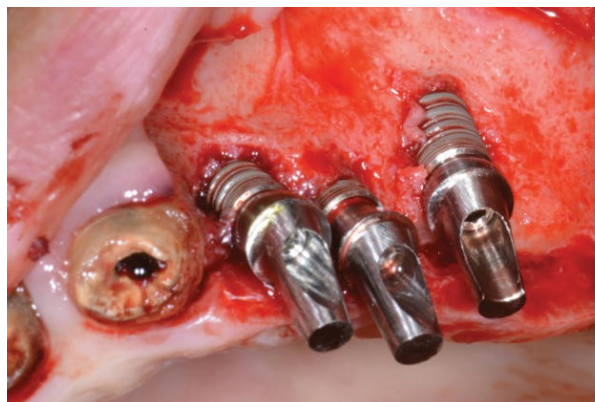


Fig. 6 Deficit osseo orizzontale peri-implantare con esposizione di alcune spire.

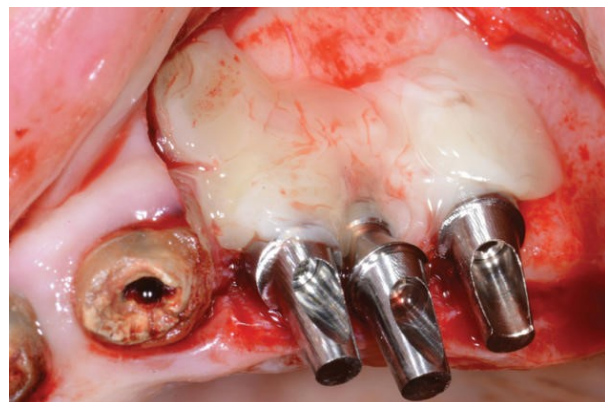


Fig. 7 Il prodotto di centrifugazione contenente fibrina e CGF è usato come membrana autologa grazie alla sua compattezza e adattabilità ai piani ossei.

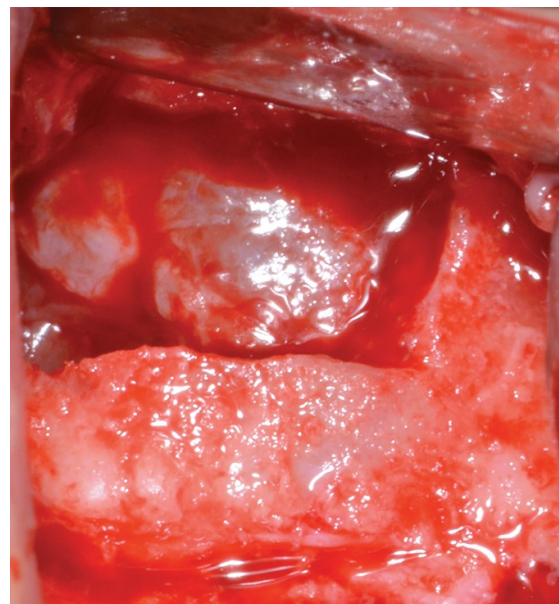


Fig. 8 Procedura di rialzo del seno con antrostomia laterale.

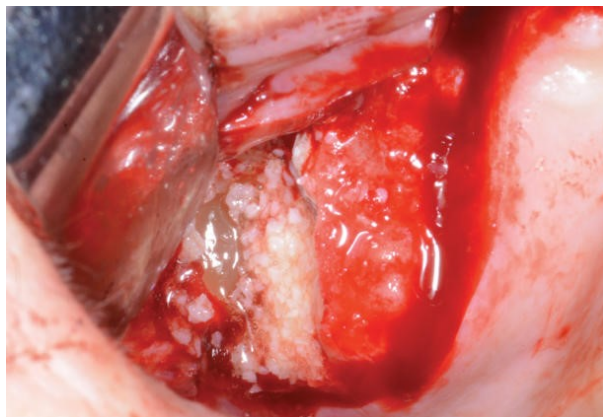


Fig. 9 Uso dei CGF miscelati ad un innesto di osso bovino particolare nel rialzo del seno mascellare.

3. La fase rossa ha l'aspetto di un gel denso di colore rosso-bruno. E' composta dal concentrato di globuli rossi, globuli bianchi, piastrine ed anche di alcuni fattori di crescita, anche se la loro presenza risulta essere meno significativa che nella fase intermedia (24). Le applicazioni cliniche della fase rossa, che normalmente viene scartata, sono da rivalutare alla luce di recenti acquisizioni eseguite in vitro (24).

Nei casi clinici che abbiamo presentato (figure 5-9), abbiamo sempre ottenuto delle eccellenti e rapide guarigioni dei tessuti molli senza segnalare alcuna complicanza o avvento avverso. Anche la sintomatologia post-operatoria si è dimostrata estremamente contenuta con limitata comparsa o completa assenza di gonfiore, trisma e dolore.

La guarigione ed il rimodellamento osseo si sono dimostrati estremamente soddisfacenti per quanto, al momento, siano stati valutati solo con follow-up a breve termine facendo uso di radiografie e/o CBCT . Viceversa, nessuna indagine istologica è stata ancora condotta.

CONCLUSIONI

Il vantaggio dell'uso di concentrati piastrinici autologhi e, in particolare, dei concentrated growth factors (CGF) è ancora oggetto di dibattito all'interno della comunità scientifica internazionale. Per quanto riguarda i concentrated growth factors (CGF), sarà opportuno eseguire degli studi controllati per valutare i reali benefici di questi preparati sui diversi tessuti dell'organismo: innanzitutto, sarà importante dimostrare una più rapida e migliore guarigione dei tessuti molli; poi, sarà significativo verificare, attraverso tecniche radiografiche ed istologiche, una migliore guarigione ossea. Infine, sarà utile quantificare la riduzione dei sintomi post-operatori (dolore, trisma, gonfiore) nei nostri pazienti. Riteniamo inoltre che le sopracitate valutazioni vadano condotte nelle seguenti situazioni cliniche: 1) guarigione di alveoli post-estrattivi; 2) lesioni intra-ossee parodontali; 3) deficit ossei peri-

implantari di tipo orizzontale e verticale; 4) rialzo del seno mascellare.

Siccome al momento solo pochi articoli sono stati pubblicati sull'uso dei CGF in odontoiatria (25, 26), ci ripromettiamo di presentare la nostra casistica entro breve tempo.

Bibliografia:

1. Albreksson T, Zarb G., Worthingtonp., Eriksson A. R. The long-term efficacy of currently used dental implants: A review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofacial Implants* 1986;1:11-25.
2. AhalooTL, Moy PK: Which Hard Tissue Augmentation Techinques Are the Most Successful in Furnishing Bony Support for Implant Placement? *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007 ;22:49-70.
3. Chiapasco M, Casentini P, Zaniboni M Bone augmentation procedures in implant dentistry. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009; 24Suppl:237-259.
4. Fiorellini JP, Nevins ML. Localized ridge augmentation/preservation. A systematic review. *Ann Periodontol.* 2003;8(1):321-7.
5. Intini G. The use of platelet-rich plasma in bone reconstruction therapy. *Biomaterials* 2009; 30:4956-4966.
6. Grainger DJ, Mosedale DE, Metcalfe JC. TGF-beta in blood: A complex problem. *Cytokine Growth Factor Rev* 2000; 11:133-145.
7. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR.. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85(6):638-46.
8. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14(4):529-35.
9. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Dohan DM. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Orai Surg Orai Med Orai Pathol Orai Radiol Endod* 2006; 101:299-303.
10. Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): A gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors* 2009; 27:63-69.
11. Camelo M , Nevins ML, Schenk RK, Lynch SE, Nevins M. Periodontal regeneration in human Class II furcations using purified recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) with bone allograft. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2003;23(3):213-25.
12. Nevins M, Camelo M, Nevins ML, Schenk RK, Lynch SE . Periodontal regeneration in humans using recombinant human platelet-derived growth factor-BB (rhPDGF-BB) and allogenic bone. *J Periodontol* 2003;74(9):1282-92.
13. Nevins M, Giannobile WV, McGuire MK, Kao RT, Mellonig JT, Hinrichs JE, McAllister BS, Murphy KS, McClain PK, Nevins ML, Paquette DW, Han TJ, Reddy MS, Lavin PT, Genco RJ, Lynch SE. Platelet-derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain: results of a large multicenter randomized controlled trial. *J Periodontol* 2005;76(12):2205-15.

14. McGuire MK, Kao RT, Nevins M, Lynch SE. RhPDGF-BB promotes healing of periodontal defects: 24-month clinical and radiographic observations. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2006;26(3):223-31.
15. Simion M, Rocchietta I, Kim D, Nevins M, Fiorellini J. Vertical ridge augmentation by means of deproteinized bovine bone block and recombinant human platelet-derived growth factor-BB: a histologic study in a dog model. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2006;26(5):415-23.
16. Simion M, Nevins M, Rocchietta I, Fontana F, Maschera E, Schupbach P, Kim DM. Vertical ridge augmentation using an equine block infused with recombinant human platelet-derived growth factor-BB: a histologic study in a canine model. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2009;29(3):245-55.
17. Nevins ML, Camelo M, Schupbach P, Kim DM, Camelo JM, Nevins M. Human histologic evaluation of mineralized collagen bone substitute and recombinant platelet-derived growth factor-BB to create bone for implant placement in extraction socket defects at 4 and 6 months: a case series. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2009;29(2):129-39.
18. Howell TH, Fiorellini J, Jones A, Alder M, Nummikoski P, Lazaro M, Lilly L, Cochran D. A feasibility study evaluating rhBMP-2/absorbable collagen sponge device for local alveolar ridge preservation or augmentation. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1997;17(2):124-39.
19. Cochran DL, Jones AA, Lilly LC, Fiorellini JP, Howell H. Evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in oral applications including the use of endosseous implants: 3-year results of a pilot study in humans. *J Periodontol* 2000;71(8):1241-57.
20. Fiorellini JP, Howell TH, Cochran D, Malmquist J, Lilly LC, Spagnoli D, Toljanic J, Jones A, Nevins M. Randomized study evaluating recombinant human bone morphogenetic protein-2 for extraction socket augmentation. *J Periodontol* 2005;76(4):605-13.
21. Lynch SE. Introduction in Lynch SE, Genco RJ, Marx RE (eds) *Tissue Engineering: Applications in Maxillofacial Surgery and Periodontics*. Chicago : Quintessence, 1999.
22. Darby IB, Morris KH. A systematic review of the use of growth factors in human periodontal regeneration. *J Periodontol*. 2013;84(4):465-76.
23. Khoshkam V, Chan HL, Lin GH, Mailoa J, Giannobile WV, Wang HL, Oh TJ. Outcomes of regenerative treatment with rhPDGF-BB and rhFGF-2 for periodontal intra-bony defects: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2015;42(3):272-80.
24. Rodella L, Favero G, Boninsegna R, Buffoli B, Labanca M, Scari G, Sacco L, Batani T, Rezzani R. Growth Factors, CD34 positive cells and fibrin network. Analysis in concentrated Growth Factors fraction. *Microsc Res Tech* 2011;74(8):772-7.
25. Georgakopoulos I, Gialidis S, Tsantis S, Georgakopoulos P, Itziou P, Gialidis G, Margoni I. A case-study of seven dental implants placed in the maxillary sinus with intentional schneiderian membrane perforation. *J Impl Advanced Clin Dent* 2014;6 (1):8-19.

26. Inchingolo F, Cantore S, Dipalma G, Georgakopoulos I, Almasri M, Gheno E, Motta A, Marrelli M, Farronato D, Ballini A, Marzullo A. Platelet rich fibrin in the management of medication-related osteonecrosis of the jaw: a clinical and histopathological evaluation. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2017;31(3):811-816.

To cite:

Forabosco A, Spinato S, Garuti G, Forabosco E, Consolo U. I fattori di crescita piastrinici e i concentrated growth factors – 2017;27(9):690-694.

Materials and methods:

Concentrated growth factors (CGF), which have only recently been utilized in peri-implant bone regeneration, are examined.

Aim of the work:

The aim of this review is to examine the regenerative potential of platelet-derived growth factors (PDGF) in dentistry.

Results:

The efficacy of PDGF regarding improvement and acceleration of healing of post-extractive sockets, periodontal defects, horizontal and vertical peri-implant bone atrophy and maxillary sinus lift procedures is evaluated.

Conclusion:

Despite encouraging preliminary outcomes, further clinical and histological studies are necessary in order to confirm or refute CGF efficacy.

Redazione

<http://www.ariesdue.it>