

# Scientific Evidence

## UNO STUDIO IMMUNOISTOCHEMICO SUI SOSTITUTI OSSEI EQUINI



L'aggiunta di un sostituto osseo equino all'osso autologo non cambia le proprietà immunoistochimiche del tessuto rigenerato.



Dalla redazione Bioteck Academy

Nella chirurgia rigenerativa orale e maxillo-facciale il ricorso ai sostituti ossei mira ad evitare il prelievo di osso autologo, ovvero l'apertura di un secondo sito chirurgico, a volte extra-orale. La chirurgia addizionale, infatti, oltre ad aumentare costi e tempi dell'intervento, espone il paziente ad una maggiore probabilità di soffrire di complicanze intra- e post-operatorie. Gli innesti autologhi possiedono potenzialmente tutte e tre le caratteristiche richieste dalla cosiddetta triade tissutale: presenza di cellule, capacità di esercitare un effetto osteoconduttivo, presenza di fattori di crescita. I biomateriali alternativi non possiedono tutte queste caratteristiche: la maggior parte dei sostituti ossei disponibili esercitano il solo effetto di osteoconduzione e di molti è noto che l'interazione con le cellule del tessuto osseo non avviene con cinetiche e modalità fisiologiche. I sostituti Bioteck sono ricavati con un processo enzimatico a temperature controllate, Zymo-Teck, che conserva il collagene osseo all'interno dei tessuti. È stato dimostrato come questi biomateriali vengano riconosciuti in maniera fisiologica dalle cellule deputate al rimaneggiamento del tessuto osseo, gli osteoclasti<sup>1</sup>, che ne permettono una degradazione controbilanciata dalla formazione di neo tessuto osseo ad opera degli osteoblasti, la cui attività può essere ulteriormente favorita dalla presenza del collagene<sup>2-3</sup>. Lo studio presentato in questa scheda illustra le caratteristiche immunoistochimiche del tessuto osseo di nuova formazione generato a partire dall'innesto di biomateriale Bioteck in abbinamento a osso autologo, confrontandolo con quanto ottenuto col solo impiego di quest'ultimo.

1. Perrotti, V. et al. Human osteoclast formation and activity on an equine spongy bone substitute. *Clin Oral Implants Res*, 20(1), 17-23 (2009)

2. Green J, et al. Cell-matrix interaction in bone: type I collagen modulates signal transduction in osteoblast-like cells. *Am J Physiol*, 268(5 Pt 1), C1090-1103 (1995)

3. Mizuno M, et al. Type I collagen-induced osteoblastic differentiation of bone-marrow cells mediated by collagen-alpha2beta1 integrin interaction. *J Cell Physiol*, 184(2), 207-213 (2000)

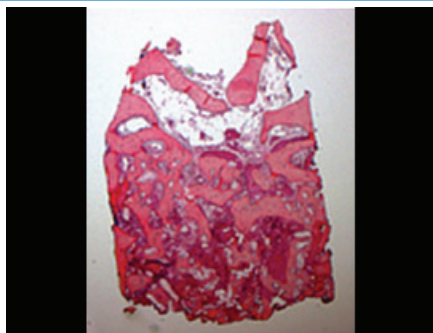
## Materiali

Lo studio ha impiegato un sostituto osseo equino a collagene preservato (Osteoplant Osteoxenon, Bioteck), composto di granuli ossei sia spongiosi che corticali (1:1) della dimensione di 0.5 – 1 mm. Il biomateriale è ottenuto attraverso l'eliminazione enzimatica degli antigeni utilizzando il processo Zymo-Teck.

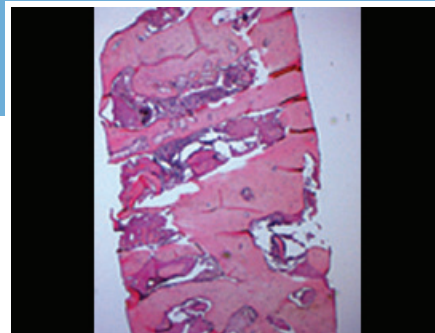
Questo trattamento permette l'eliminazione selettiva delle molecole indesiderate, attraverso l'applicazione di specifici enzimi che idrolizzano specifiche classi o tipologie di molecole. In particolare, la selettività permette di conservare le molecole che, non

antigeniche, possono esercitare un effetto positivo sulla rigenerazione ossea: per questo nella linea Osteoxenon (Osteoplant), il collagene osseo è lasciato intatto, nella sua conformazione quaternaria nativa.

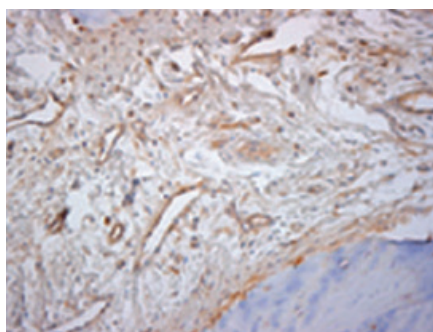
Lo studio ha visto impiegate anche le membrane in collagene Biocollagen; si tratta di membrane ottenute da tendine di Achille equino che esercitano un tempo di protezione tra le 4 e le 6 settimane. Idoneo dunque per la protezione dell'osteotomia di accesso laterale al seno mascellare.



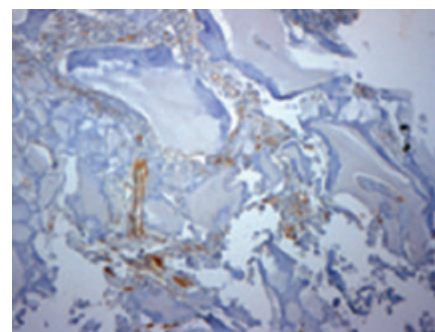
**Fig. 1** - Istologia, ematossilina-eosina, ingrandimento 2.5x. Innesto di osso autologo. Si osserva un discreto numero di particelle a contatto con l'osso neoformato.



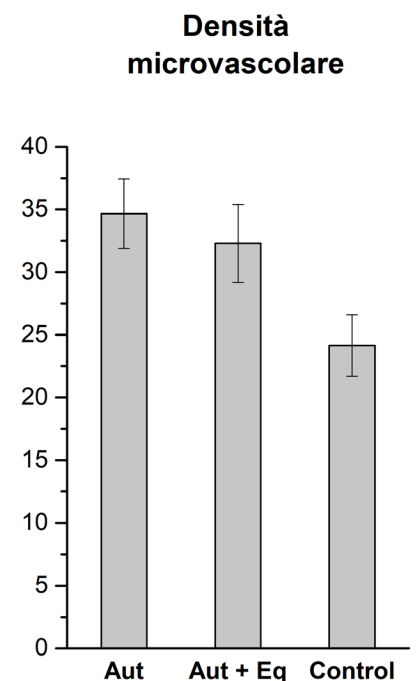
**Fig. 2** - Istologia, ematossilina-eosina, ingrandimento 2.5x. Innesto di osso autologo e sostituto equino. Il quadro istologico è simile.



**Fig. 4** - Sezione immunoistochimica per la valutazione della MVD, innesto di solo osso autologo; ingrandimento 10x.



**Fig. 5** - Sezione immunoistochimica per la valutazione della MVD, innesto di osso autologo e sostituto equino; ingrandimento 10x.



**Fig. 3** - La quantità di vasi non è differente tra innesto d'osso autologo (Aut) e autologo + sostituto equino (Aut + Eq), ma è maggiore rispetto all'osso basale (Control).

# UNO STUDIO IMMUNOISTOCHEMICO SUI SOSTITUTI OSSEI EQUINI



L'aggiunta di un sostituto osseo equino all'osso autologo non cambia le proprietà immunoistochimiche del tessuto rigenerato.

## Risultati

La scheda riepiloga i risultati di uno studio pubblicato nel 2011 su *Implant Dentistry*.<sup>4</sup> I ricercatori hanno analizzato campioni ossei provenienti da seni mascellari innestati o con solo osso autologo o con una miscela di osso autologo e Osteoxenon in proporzione 1:1 e, come controllo, campioni di tessuto osseo basale.

Le analisi istologiche hanno comportato la misura della densità microvascolare (MVD), una misura della densità dei vasi nel tessuto, indice – nei tessuti in fase di rigenerazione – della neovascolarizzazione tessutale. È seguita la quantificazione per via immunoistochimica di due fattori che, a diverso titolo, concorrono alla modulazione positiva dell'osteogenesi: il fattore di crescita VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), anch'esso coinvolto nei fenomeni angiogenetici e l'enzima NOS, coinvolto nella sintesi dell'ossido d'Azoto (NO), un mediatore locale di diversi processi cellulari.

La tecnica di analisi immunoistochimica prevede che i campioni, dopo essere stati demineralizzati e inclusi in paraffina, siano sezionati in fettine sottili. Queste sono adese a vetrini per microscopia e i vetrini colorati con appositi coloranti; successivamente, il vetrino viene posto a contatto con una soluzione contenente un

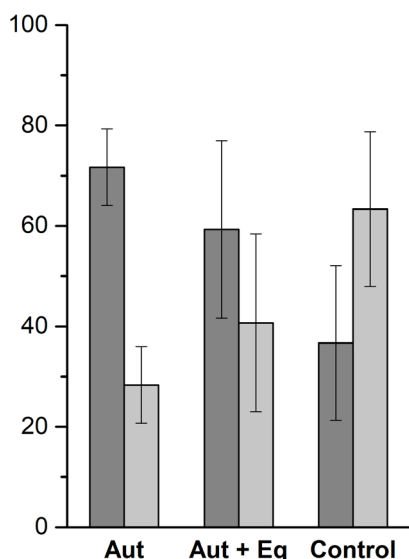
anticorpo in grado di riconoscere la proteina di interesse; avvenuto il legame tra anticorpo e bersaglio, si espone il vetrino ad un secondo anticorpo in grado di riconoscere il primo, recante legato un composto colorato. La quantificazione della colorazione permette di misurare la quantità di molecola presente nel campione. L'analisi è stata condotta anche per intensità di segnale (bassa/alta).

La densità microvascolare nei due gruppi non era significativamente diversa, ed era significativamente maggiore di quella del gruppo di controllo, come atteso essendo il controllo costituito da tessuto basale. Anche per i fattori di crescita VEGF e NOS non si sono riscontrate differenze significative tra il gruppo innestato con solo osso autologo e con la miscela autologo/sostituto equino.

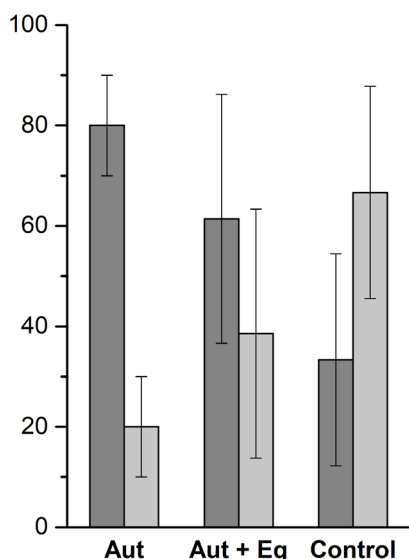
I risultati dello studio dimostrano come Osteoxenon interagisca in maniera fisiologica con i processi rigenerativi, confermandolo come una valida alternativa all'impiego del solo osso autologo.

4. Artese L, et al. Sinus lift with autologous bone alone or in addition to equine bone; an immunohistochemical study in man. *Implant Dent*, 20(5), 383-388 (2011)

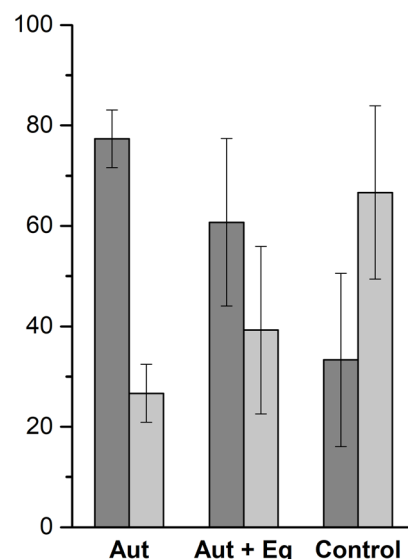
### VEGF



### NOS1



### NOS3



**Fig. 6** – Non si osservano differenze significative tra i due gruppi nell'espressione di VEGF ad alta (grigio scuro) e bassa (grigio chiaro) intensità.

**Fig. 7** – Non si osservano differenze significative tra i due gruppi nell'espressione di NOS1 ad alta (grigio scuro) e bassa (grigio chiaro) intensità.

**Fig. 8** – Non si osservano differenze significative tra i due gruppi nell'espressione di NOS3 ad alta (grigio scuro) e bassa (grigio chiaro) intensità.



Visita [www.bioteckacademy.com](http://www.bioteckacademy.com) per altre schede cliniche e per accedere alla sempre aggiornata letteratura scientifica.