

Biocompatibilità e integrazione dei tessuti duri con impianti monofasici all'ossido di zirconio a superficie strutturata

Studio combinato in vitro e in vivo

Oltre agli impianti in titanio, in riabilitazione orale sono sempre più adottati impianti all'ossido di zirconio, allo scopo di ottenere un risultato estetico migliore in condizioni equiparabili di sicurezza terapeutica. Nell'ambito del presente studio sono state eseguite colture cellulari e sperimentazioni su animali miranti ad appurare la biocompatibilità e l'integrazione dei tessuti duri relative a impianti in ossido di zirconio a superficie strutturata (White-Sky®, Bredent medical, Senden, Germania). Durante la coltura cellulare sono stati incubati 32 campioni prova di superfici in ossido di zirconio o in titanio puro levigato, oppure a superficie strutturata (lavorata meccanicamente e sabbata) o soltanto lavorata meccanicamente, insieme a cellule SAOS-2 osteoblasto simili; la proliferazione cellulare è stata valutata tramite ATP assay ($n = 6$) dopo due ore, nonché dopo due, cinque e sette giorni. Le caratteristiche morfocellulari sono state analizzate servendosi di un microscopio elettronico a scansione ($n = 2$). Il polistirene per le colture cellulari senza campioni di prova è servito da controllo positivo. Per la sperimentazione animale sono stati estratti i molari mandibolari di quattro cani; dopo due mesi in ciascun soggetto sono stati inseriti, con metodo transgengivale, due impianti all'ossido di zirconio a superficie strutturata. Il prelevamento è seguito dopo quattro, 14, 28 e 56 giorni ($n = 2$). Dopo il trattamento istologico dei tessuti duri si è proceduto alla valutazione dei campioni e quale indice di integrazione ossea è stato assunto il contatto diretto osso/impianto (BIC). Su tutte le superfici testate si rilevava una proliferazione di osteoblasti SAOS-2, laddove la superficie in ossido di zirconio lavorata meccanicamente evidenziava una proliferazione cellulare più elevata rispetto alla superficie levigata in titanio e alla superficie strutturata in ossido di zirconio ($p \leq 0,05$, ANOVA). La sperimentazione al microscopio elettronico a scansione evidenziava morfologie cellulari equiparabili, anche se l'adesione cellulare sembrava manifestarsi prima sull'ossido di zirconio lavorato meccanicamente. La valutazione istomorfometrica evidenziava come il contatto impianto/osso aumentasse nel tempo dal 44,8% ffl 2,6% in 4ª giornata al 59,5% ffl 1,2% in 14ª giornata e dal 63,5% ffl 2,6% in 28ª giornata al 71,8% ffl 3,9% in 56ª giornata. Si è desistito dal condurre un'analisi statistico-induttiva del contatto impianto/osso in ragione dell'esiguità numerica dei casi da esaminare – $n = 2$. A seguito di quanto sopra si può concludere che il sistema implantare in ceramica all'ossido di zirconio adottato mostra un'elevata biocompatibilità e una rapida osteointegrazione e, dunque, soddisfa i requisiti richiesti dagli impianti dentali.

Parole chiave: Ossido di zirconio, Impianti, Biocompatibilità, Contatto impianto/osso, Adesione cellulare, Osteoblasti.

* Policlinico di Chirurgia odontoiatrica e Aufnahme, Clinica odontostomatologica della Germania occidentale, Università Heinrich Heine, Moorenstraße 5, 40225 Düsseldorf.

Indirizzo per la corrispondenza:

Dott. Daniel Rothamel
E-mail: rothamel@uni-duesseldorf.de

INTRODUZIONE

In passato, la sostituzione di denti mancanti con impianti dentali allo scopo di ristabilire la funzione masticatoria è stata ampiamente studiata¹. È possibile prevedere una percentuale di successo superiore al 95% con un tasso di sopravvivenza implantare a 10 anni e del 92% con un tasso di sopravvivenza a 15 anni². Anche se attualmente lo standard produttivo è rappresentato da impianti in titanio a superficie mordenzata e sabbiata, da alcuni anni nella realizzazione di impianti trovano applicazione anche alcune ceramiche (bianche) all'ossido di zirconio, essenzialmente in ragione dei loro migliori risultati estetici. È stato dimostrato che questo materiale facilita il contatto diretto osso/impianto in vista dell'integrazione ossea, evidenziando una buona stabilità a lungo termine³⁻⁵. Inoltre, per la ceramica all'ossido di zirconio è stata accertata una biocompatibilità comparabile a quella del titanio puro⁶. Uno studio attuale ha sperimentato su animale anche il valore di svitamento per impianti in ossido di zirconio di diversa struttura. Analogamente a quanto avviene con gli impianti in titanio, dopo periodi di guarigione di 4, 8 e 12 settimane è stata osservata un'integrazione significativamente migliore dell'ossido di zirconio in presenza di morfologia superficiale ruvida⁷. In questo modo, l'integrazione ossea viene influenzata sia dall'osteconduttività della ceramica sia dalla posizione anatomica e dal potenziale osteogenico del tessuto circostante⁸.

Sebbene in linea generale l'ossido di zirconio abbia prodotto ottimi risultati, esistono finora solo poche sperimentazioni combinate in vitro e in vivo riguardanti particolari sistemi implantari disponibili in commercio. Obiettivo del presente studio era dunque quello di studiare sia la biocompatibilità in vitro sia la guarigione primaria in vivo, nonché il decorso temporale dell'integrazione ossea di un sistema implantare monofasico a superficie strutturata in ceramica all'ossido di zirconio (White-Sky[®], Bredent medical, Sندن, Germania).

MATERIALI E METODI

Test di biocompatibilità

Sono state sottoposte a prove tre superfici diverse:

1. ossido di zirconio a superficie strutturata (lavorata meccanicamente, sabbiata all'ossido di alluminio e sottoposta a un processo di pulitura validato; valore Ra: tra 2,0 e 2,4 μm);
2. ossido di zirconio lavorato meccanicamente (valore Ra: 0,5 μm);
3. titanio puro levigato.

Trentadue campioni di prova per ogni tipo, di dimensione 5 x 5 x 2 mm, sono stati immessi in una piastra per coltura cellulare con superficie antiaderente a 96 pozzetti. Nei pozzetti sono state iniettate cellule SAOS-2-osteoblasto simili (Linea cellulare Osteoblastoma della Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) di Braunschweig) alla densità cellulare di 5.000 cellule. Quale controllo positivo è stata usata una piastra per coltura cellulare separata in polistirene (Nunclon Delta Oberfläche, Nunc, Wiesbaden), particolarmente adatta come superficie di coltura per cellule aderenti⁹. Quale mezzo di coltura cellulare è stato scelto il Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM low Glucose, Gibco, Karlsruhe), miscelato con il 10% di siero fetale di vitello (Gibco), 100 unità di penicillina/ml e 100 μg di streptavidina (Gibco)/ml. La coltura è avvenuta in incubatore alle condizioni standard di coltura cellulare (37°C, 5% CO₂). Il mezzo è stato sostituito dopo 24 ore e dopo 3 giorni. Dopo 2 ore, nonché 2, 5 e 7 giorni, la proliferazione cellulare è stata determinata in pozzetto (n = 6) misurando la luminescenza del contenuto di ATP (CellTiter-Glo[®], Promega, Mannheim, Germania). L'assay CellTiter-Glo[®] quantifica la concentrazione cellulare di ATP che, in quanto misura dell'attività metabolica delle cellule, è proporzionale alla conta cellulare. Parallelamente alle analisi quantitative,

per valutare l'adesione cellulare alle superfici dei materiali, due campioni sono stati fissati con glutaraldeide al 4%, essiccati seguendo il "metodo del punto critico", marcati con uno spray color oro (Cressington Sputter Coater 108 auto, Watford, Inghilterra) e valutati morfologicamente con microscopio elettronico a scansione (S3000N, Hitachi, Francoforte sul Meno, Germania).

Sperimentazione animale

La sperimentazione è stata eseguita su quattro cani Beagle dell'età di 12 mesi (peso medio 12,3 kg) con dentizione iniziale completa, sana e permanente. Tipo di animale, modalità di trattamento e processo sperimentale sono stati autorizzati dalla locale commissione sulla sperimentazione animale prima dell'inizio dello studio. Si è proceduto all'estrazione bilaterale dei molari mandibolari. Dopo un periodo di guarigione di 2 mesi, su ogni animale sono stati inseriti due impianti all'ossido di zirconio a superficie strutturata di dimensioni 4,5 x 10 mm (White-Sky®, Bredent medical, Senden, Germania). A distanza di 4, 14, 28 e 56 giorni di guarigione transgingivale, è stato sacrificato un soggetto sperimentale per volta e la relativa sezione mandibolare preparata per l'esame istologico dei tessuti duri¹⁰.

Procedimento operativo

Dopo sedazione intramuscolare con 0,17 mg di acepromazina (Vetranquil®, 1%, Ceva Tiergesundheit, Düsseldorf, Germania) ogni chilogrammo di peso corporeo, l'anestesia generale è stata somministrata tramite 21,5 mg di tiopental (Trapanal®, 2,5%, Altana GmbH, Costanza, Germania) ogni chilogrammo di peso corporeo; inoltre, a tutti i soggetti sperimentali è stata somministrata una miscela di ossigeno, protossido di azoto e isoflurano. Oltre a questo, tutti i soggetti hanno ricevuto un'infusione di Ringer lattato e una terapia antidolorifica endovenosa di 0,4 mg di piritramide (Dipidor®, Janssen-Cilag GmbH, Neuss) per ogni chilogrammo di peso corporeo e 4,5 mg di

carprofene (Rimadyl®, Pfitzer Pharma GmbH, Karlsruhe) per ogni chilogrammo di peso corporeo. Il trattamento analgesico postoperatorio è stato eseguito con piritramide e carprofene e somministrato per via sottocutanea per un periodo di tre giorni. Tutti gli animali sono stati coperti da terapia antibiotica, sia durante sia dopo l'intervento, consistente in clindamicina [1,0 mg Cle robe® (Pharmacia Tiergesundheit, Erlangen) per ogni chilogrammo di peso corporeo].

All'inizio dello studio, dopo la somministrazione totale di 1 ml di ultracaina con UDS Forte® (Sanofi-Aventis, Francoforte sul Meno, Germania) sono stati estratti il primo e il secondo molare da entrambi i lati della mandibola, previa separazione verticale, in condizione di anestesia per insufflazione.

È seguito un periodo di guarigione di 2 mesi, allo scadere del quale sono stati inseriti gli impianti – sempre in anestesia per insufflazione –. Dopo il taglio dell'osso crestale e la preparazione del lembo mucoperiosteico, si è proceduto a eseguire le osteotomie implantari e l'inserimento degli impianti secondo le indicazioni del produttore (White-Sky®, Bredent medical, Senden, Germania) (Fig. 1). Per evitare un sovraccarico occlusale, la parte sopragingivale dell'impianto è stata accorciata di 2 mm tramite fresa diamanta, con conseguente adattamento dei margini della ferita con filo di sutura assorbibile (PGA 3.0, Resorba GmbH, Norimberga). È seguita la guarigione transgingivale di tutti gli impianti. Al termine della guarigione primaria è stata adottata una pratica trisettimanale di igiene orale con uno spazzolino dentale morbido normalmente disponibile in commercio. Dall'inserimento implantare al termine della sperimentazione si è passati a un tipo di alimentazione a dieta morbida.

Prelievo e occlusione dei campioni

Dopo un periodo di guarigione di 4, 14, 28 e 56 giorni è stato sacrificato un soggetto sperimentale per volta a seguito della somministrazione per via endovenosa di

50.000 i.E. di eparina tramite sovradosaggio di pentobarbital [200 mg i.v. di Eutha 77® (Essex-Tierarznei, Monaco di Baviera, Germania) per ogni chilogrammo di peso corporeo]. Le carotidi degli animali sono state cateterizzate da entrambi i lati e la testa di ogni animale fissata per via endoarteriosa con un litro di formaldeide soluzione acquosa al 4% tamponata. Le relative sezioni di mandibola sono state sezionate nel blocco e depositate per una settimana in formaldeide soluzione acquosa al 4%. Infine, i campioni sono stati disidratati in una serie alcolica a concentrazione crescente, infiltrati con apposito monomero metacrilato e occlusi in metacrilato (Technovit 7200 VLC, Heraeus Kulzer, Wehrheim). Da ciascun campione sono state ricavate più sezioni, applicando la tecnica istologica standard per i tessuti duri in direzione buccorale rispetto all'asse implantare; le sezioni sono state poi colorate con blu toluidina. Lo spessore finale dei preparati era di circa 50 µm.

Valutazione istomorfometrica

Tutte le valutazioni sono state eseguite da un ricercatore esperto in istologia, tenuto all'oscuro dell'appartenenza ai vari gruppi, tramite microscopio a luce trasmessa (BX50, Olympus, Amburgo). Per la valutazione istomorfometrica è stata scelta di volta in volta una sezione centrale, fotografata a ingrandimenti di 12,5, 40 e 200 X con una macchina fotografica digitale a sensore CCD (Color View III Kamera, Olympus). Le immagini sono state misurate istomorfometricamente grazie un apposito software (SIS analySIS Auto Software 3.2, Soft imaging System GmbH, Münster) ed è stato calcolato il contatto impianto/osso in termini di quota di superficie implantare circondata da tessuto osseo.

Analisi statistica

Per la valutazione statistica dello strato di ATP è stato usato il programma statistico SPSS (SPSS 14.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). I



Fig. 1 L'inserimento dell'impianto è avvenuto seguendo le indicazioni del produttore (White-Sky® Bredent medical, Senden, Germania). Dopo la preparazione del lembo mucoperiosteo è stato definito l'asse implantare con una fresa pilota e il letto implantare usando frese di dimensioni crescenti, fino a raggiungere la dimensione finale di 3,5x12 mm. Seguivano tutte le preparazioni ossee in condizione di irrigazione costante di NaCl, con avvistamenti di 500 U/min. Gli impianti sono stati inseriti in condizione di sterilità tramite un inseritore e uno stop d'arresto fino al raggiungimento della profondità finale d'inserimento in modalità autofilettante.

valori medi e gli scostamenti standard sono stati calcolati separatamente per ciascun parametro. Ai fini dell'analisi statistica induttiva del test di proliferazione è seguita un'analisi della varianza con campioni multivariati (ANOVA), previa verifica dell'esistenza di una distribuzione normale tramite test di Kolmogorow-Smirnoff. Il livello di significatività statistica è stato individuato in $P \leq 0,05$.

RISULTATI

Test di biocompatibilità

Nella figura 2 sono rappresentati graficamente i risultati dell'ATP assay, misurati in "counts per second" (cps). Nel gruppo di controllo, il segnale ATP è aumentato costantemente nel tempo dai 200.000 cps del

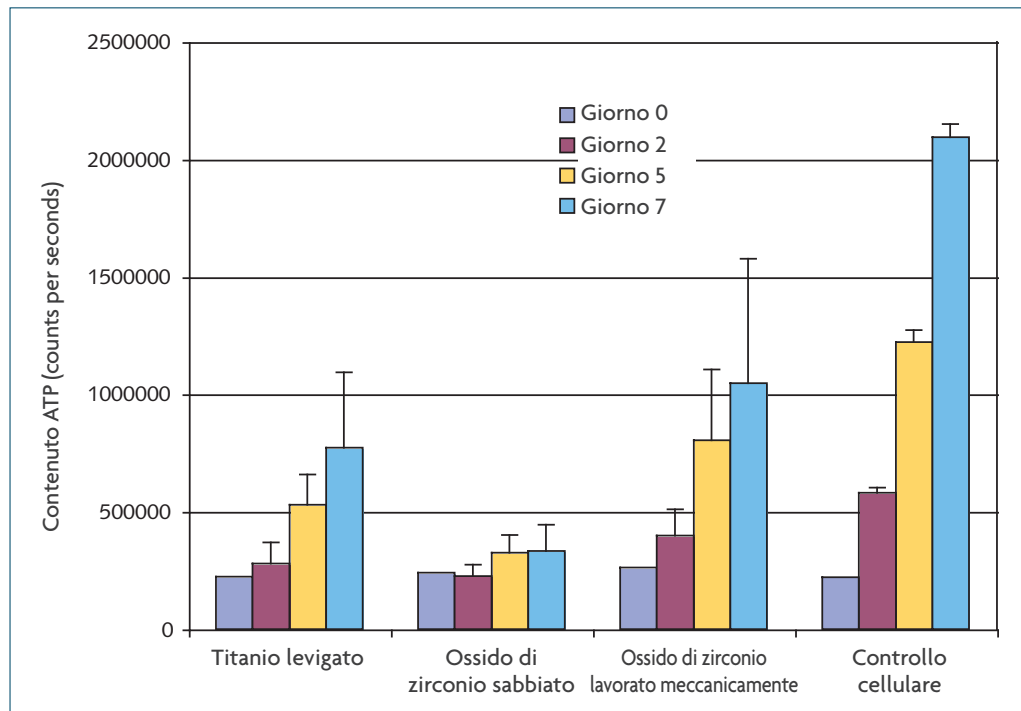


Fig. 2 Rappresentazione della proliferazione di cellule SAOS-2 su superfici diverse al giorno 0 (tempo basale, 2 h) e in 2a, 5 a e 7a giornata (dati espressi in "counts per second").

giorno 0 (tempo basale) fino a raggiungere, alla 7ª giornata, un valore superiore a 2.000.000 cps. È stato osservato un continuo aumento del segnale anche sulle superfici in ossido di zirconio lavorate meccanicamente e sulle superfici in titanio levigato. In questi casi, alla 7ª giornata sono stati raggiunti valori massimi rispettivamente di 1.000.000 e 750.000 cps. Al contrario, il segnale ATP misurato sulle superfici in ossido di zirconio sabbate restava invariato; alla 7ª giornata era paragonabile a quello registrato dopo 2 ore (tempo basale).

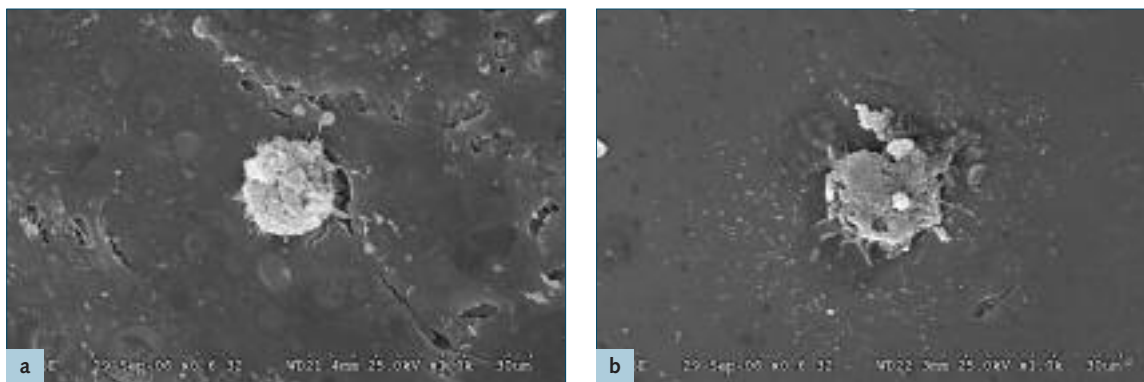
Sulle superfici strutturate in ossido di zirconio (Fig. 3a), le riprese al microscopio elettronico a scansione evidenziavano uno strato cellulare con poche cellule sferoidali e formazione iniziale di pseudopodi. Sul titanio levigato (Fig. 3b) e sulle superfici all'ossido di zirconio lavorate meccanicamente (Fig. 3c) le cellule aderivano chiaramente alla superficie e mostravano un numero elevato di pseudopodi.

Sperimentazione animale

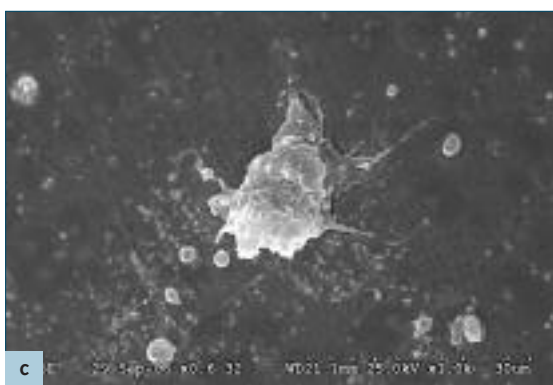
Tutti gli impianti sono guariti nell'arco di qualche giorno in assenza di complicazioni. Per tutta la durata dello studio non sono state osservate allergie, infezioni o perdite implantari.

Valutazione istologica e istomorfometrica

Rispetto all'integrazione ossea dell'impianto in ossido di zirconio in mandibola canina, la sperimentazione istologica dei preparati ha evidenziato il seguente quadro: conformemente all'inserimento autofiletante del corpo implantare, dopo un periodo di guarigione di 4 giorni nei tessuti duri si era prodotto un notevole spazio interstiziale in corrispondenza della filettatura, tra corpo implantare e letto osseo, spazio in gran parte colmato da un coagulo sanguigno in formazione. Il contatto diretto impianto/osso era regolarmente riconoscibile solo tra il letto osseo e la par-



Figg. 3a-c Riprese al microscopio elettronico a scansione di cellule SAOS-2 su titanio levigato (a), ossido di zirconio a superficie strutturata (b) e ossido di zirconio lavorato meccanicamente (c) in 7a giornata (ingrandimento 800 x).

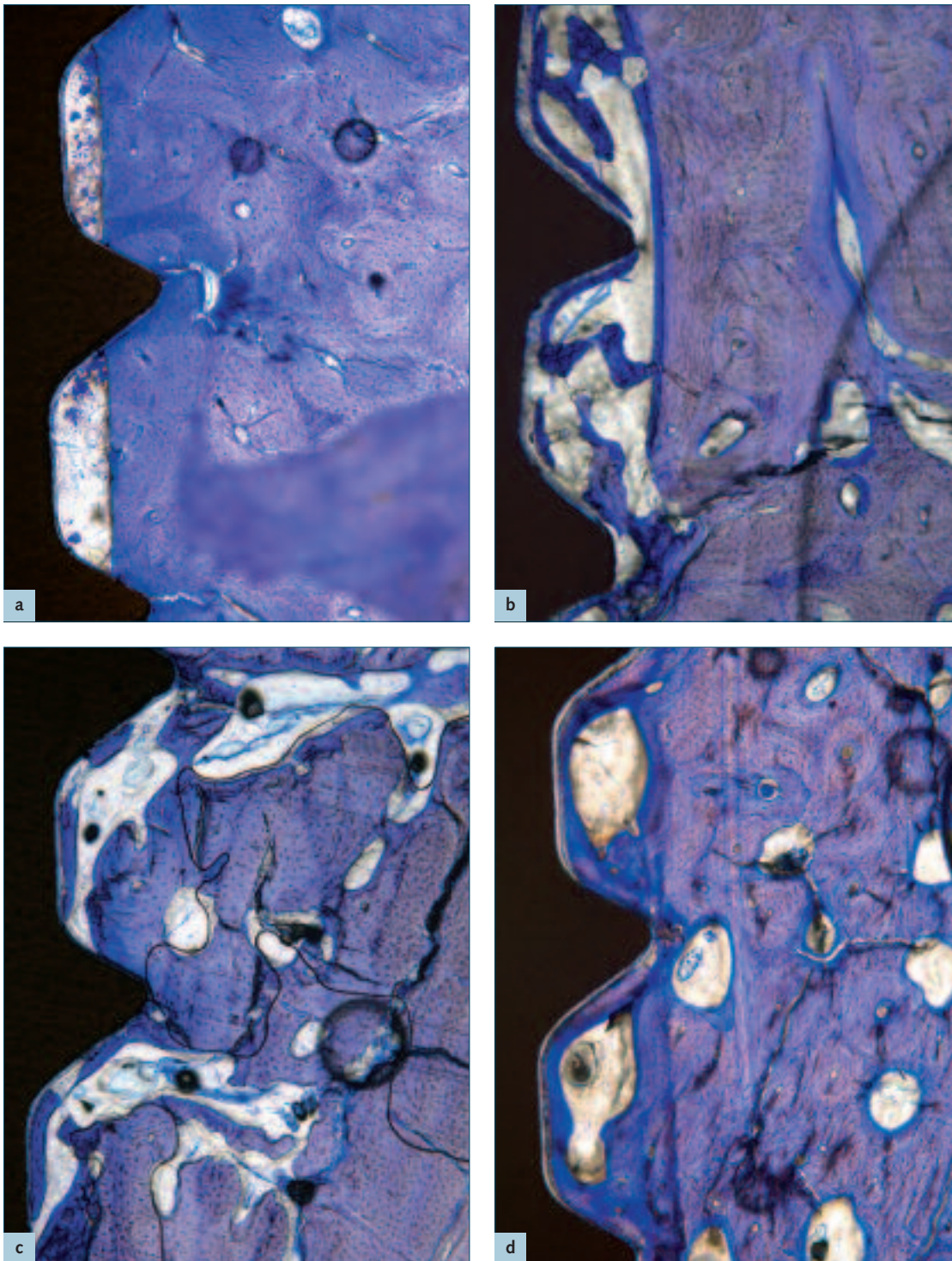


te esterna della filettatura (Fig. 4a). Nella spazio interstiziale sono stati rilevati anche isolati trucioli da trapanatura. Dopo un periodo di guarigione di 14 giorni, l'originale contatto diretto impianto/osso era aumentato e sostituito da un'area di demineralizzazione. In materia di rimodellazione veniva tuttavia accertata la presenza di una nuova area di mineralizzazione anche all'interno della filettatura. Tale area era costituita da barre di osso reticolare di genesi recente e sembrava crescere partendo dalla periferia in aderenza al corpo implantare (Fig. 4b).

Dopo un periodo di guarigione di altre 2 settimane, la quota del contatto impianto/osso era ulteriormente aumentata. Il tessuto osseo attiguo all'impianto sembrava essere inoltre molto più compatto e di un grado di mineralizzazione più elevato, caratteristica che si manifestava anche nel-

la formazione di singole strutture ossee lamellari (Fig. 4c). Dopo un periodo di guarigione finale di ulteriori 28 giorni, la presenza di osso lamellare era rilevabile anche direttamente sul corpo implantare. In questi campioni, il contatto impianto/osso era evidentissimo e si manifestava con una sottile formazione, a tratti continua, di strato osseo sull'ossido di zirconio. Ciò nonostante, nei campioni prelevati in 56a giornata era ancora riconoscibile una chiara linea di demarcazione tra il letto osseo vero e proprio e la quota di tessuto duro di nuova formazione, nonostante fosse già parzialmente attraversato da numerosi osteoni di nuova formazione (Fig. 4d).

Come dimostrato dall'analisi istomorfo-metrica, il contatto impianto/osso è aumentato nel tempo da circa il $44,8 \pm 2,6\%$ rilevato alla 4ª giornata e il $59,5 \pm 1,2\%$ rilevato alla 14ª giornata, passando dal $63,5 \pm 2,6\%$ alla 28ª



Figg. 4a-d Reperti istologici, colorati con blu toluidina, del letto osseo periimplantare di impianti White-Sky® in ceramica all'ossido di zirconio nella sperimentazione animale, rispettivamente 4 (a), 14 (b), 28 (c) e 56 giorno dopo l'impianto (d). Se alla 4ª giornata la fenditura del taglio periimplantare è chiaramente identificabile (a), alla 14ª giornata si nota già il rimodellamento osseo e la formazione periimplantare di osso reticolare (b). Alla 28ª giornata (c) l'osso reticolare è parzialmente sostituito da osso lamellare. Cinquantasei giorni dopo l'impianto, l'integrazione ossea sembra essere terminata; il corpo implantare è in gran parte rivestito da uno strato sottile di osso lamellare (d).

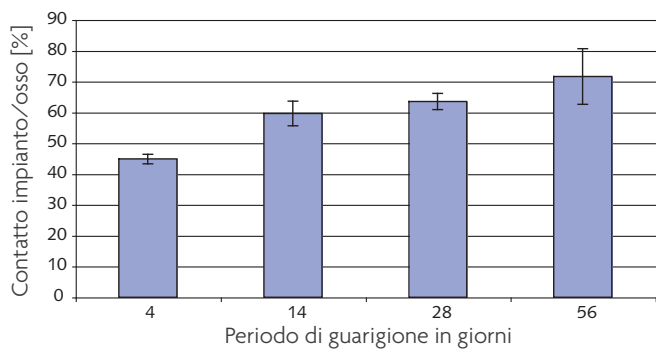


Fig. 5 Contatto impianto/osso dopo tempi di guarigione diversi (valore medio e scostamento standard, dati percentuali).

giornata, al valore massimo di $71,8 \pm 3,9\%$ rilevato nella 56ª giornata di guarigione trans-gingivale (Fig. 5).

DISCUSSIONE

I difetti fondamentali dell'applicazione del titanio a scopo implantare sono la mancanza di trasparenza e la colorazione scura del materiale, colorazione che diventa visibile in caso di insufficiente copertura dei tessuti molli o duri. Questo può influire molto negativamente sull'esito estetico di un restauro supportato da impianti, soprattutto in regione incisiva in presenza di una linea alta del sorriso. Tra le cause del problema si contano, tra l'altro, una gengiva sottile, recessioni gengivali o un incremento insufficiente in regione crestale.

I corpi implantari in ceramica si segnalano tra l'altro per una migliore trasparenza e una colorazione decisamente più chiara, caratteristiche che permettono di evitare eventuali danni estetici. Grazie alla sua colorazione e all'eccellente biocompatibilità, la ceramica all'ossido di alluminio venne inizialmente utilizzata in diversi sistemi implantari (tra gli altri, gli impianti immediati Tübinger^{11,12} e il sistema implantare BioloX). La sua fragilità nettamente superiore, se

confrontata a quella del titanio, procurò tuttavia alcune fratture d'impianto tanto che, in implantologia orale, l'uso di ceramica all'ossido di alluminio non riuscì ad affermarsi¹³.

La creazione di corpi implantari monoblocco in ossido di zirconio stabilizzato tetragonale policristallino all'ossido di ittrio (Y-TZP) aprì nuove prospettive nel campo dell'implantologia orale poiché, se confrontato con la ceramica all'ossido di alluminio, il primo presentava caratteristiche fisiche decisamente migliori¹⁴. L'ossido di zirconio è facilmente lavorabile e, così come il titanio, può essere prodotto con microtomografie superficiali diverse¹⁴. Esso mostra inoltre una tendenza limitata alla formazione di biofilm, contrastando in questo modo l'accumulo di placca¹⁵. In considerazione dei suoi vantaggi estetici e della buona biocompatibilità, oggi questo materiale rappresenta un'interessante alternativa al titanio.

Nello studio qui illustrato sono state analizzate la biocompatibilità dell'ossido di zirconio con due diverse superfici e l'integrazione ossea di impianti all'ossido di zirconio a superficie strutturata. I test di biocompatibilità condotti in vitro hanno dimostrato come l'ossido di zirconio lavorato meccanicamente favorisse la proliferazione di osteoblasti SAOS-2. La loro proliferazione era superiore a quella rilevata sul titanio sabbiato e sull'ossido di zirconio a superficie ruvida. Poiché la proliferazione di linee cellulari aderenti ha come presupposto l'adesione a una superficie, è possibile adottare come indicatore della biocompatibilità la proliferazione rilevata¹⁶. A titolo limitativo occorre tuttavia notare come, in materia di biocompatibilità, nel caso di superfici ruvide possano aver giocato un ruolo, oltre alle caratteristiche effettive del materiale, anche le necessarie fasi di lavorazione e pulizia.

L'osservazione che ruvidezze superficiali più limitate dell'ossido di zirconio producano l'adesione cellulare e la prolifera-

zione migliori era già stata confermata da altri Autori¹⁷. Nel presente studio in vitro, la superficie all'ossido di zirconio del gruppo sperimentale è stata trattata con laser al CO₂ e incubata con osteoblasti fetali. I risultati in vitro indicano come un aumento della ruvidità superficiale, clinicamente auspicabile per migliorare la stabilità primaria del corpo implantare in ceramica, implica però una limitata biocompatibilità. Al contrario, Gahlert e Coll.⁷ sono stati in grado di dimostrare come impianti strutturati all'ossido di zirconio dello stesso macrodesign evidenziasse, dopo 8 e 12 settimane, valori di svitamento più elevati rispetto agli impianti all'ossido di zirconio lavorati meccanicamente. Le sperimentazioni in vitro consentono solo limitate deduzioni sull'entità dell'integrazione ossea; l'elaborazione di superfici ruvide e biocompatibili all'ossido di zirconio sembra tuttavia essere possibile, pur richiedendo ulteriori sperimentazioni animali.

Il fatto che la superficie in polistirene (controllo positivo) presenti i valori ATP più elevati si spiega perché sia la ceramica all'ossido di zirconio, sia il titanio, evidenziano un assorbimento proteico inferiore rispetto alle superfici plastiche di coltura cellulare. L'assorbimento di proteine del siero costituisce, però, un fattore decisivo proprio per l'iniziale adesione cellulare alle superfici¹⁸.

Nella sperimentazione animale, i normali impianti in commercio all'ossido di zirconio a superficie strutturata inseriti in mandibola canina hanno dimostrato un'integrazione ossea crescente nel tempo. Mentre dopo 4 giorni residuavano ancora spazi interstiziali tra le singole filettature, già a 2 settimane dall'inserimento implantare si erano costituite aree di rimodellamento lungo l'intera superficie ossea attiva. Si noti come il contatto impianto/osso del 14,9% rilevato alla 4ª giornata non fosse da ricondursi a un'integrazione ossea già avvenuta dell'impianto all'ossido di zirconio, bensì a un calettamento osseo nei

termini del cosiddetto "Press-Fits". Dopo 2 settimane, dal punto di vista istologico in regione periimplantare si poteva già osservare un'intensiva generazione di osso reticolare, responsabile del significativo incremento del contatto impianto/osso. In seguito, è stato possibile osservare istologicamente un incremento continuo dell'osso reticolare in regione periimplantare: il valore medio del contatto impianto/osso alla 28ª giornata era del 63,5% e raggiungeva, alla 56ª giornata, il picco massimo del 71,8%. Valori equiparabili per gli impianti in ceramica all'ossido di zirconio sono stati descritti in un altro studio effettuato su conigli, e questa circostanza ha condotto gli Autori a dedurre l'esistenza di biocompatibilità e osteoconduttività elevate.

Su cani della stessa razza usata nel presente studio, Schwarz e Coll.¹⁹ hanno rilevato valori BIC (4ª giornata: 49,4 ± 6,5%; 7ª giornata: 59,0 ± 5,7%; 14ª giornata: 59,3 ± 5,0%; 28ª giornata: 65,1 ± 10,3%) paragonabili a quelli ottenuti dagli impianti in ceramica all'ossido di zirconio considerati nel presente studio, adottando impianti in titanio sabbiati e mordenzati all'acido normalmente disponibili in commercio (superficie SLA Straumann: sand blasted and acid etched) e la stessa scansione temporale di questo studio. Il ristretto numero di impianti inseriti consente tuttavia solo un'interpretazione molto limitata dei dati ottenuti. I reperti da sperimentazione animale disponibili indicano, però, come gli impianti in ceramica all'ossido di zirconio a superficie strutturata qui analizzati possano evidenziare un contatto impianto/osso paragonabile a quello degli impianti in titanio sabbiati e mordenzati. A questo proposito occorre tuttavia considerare la diversità del macrodesign degli impianti analizzati nei due studi; un confronto diretto dei valori BIC risulta, dunque, molto limitato.

Dal punto di vista istologico, nell'ambito del processo di rinnovamento dopo 2 settimane è stato possibile osservare riassorbimenti ossei periimplantari. Questo può essere considerato un indicatore del raggiun-

gimento di una diminuzione clinicamente rilevante della stabilità primaria degli impianti inseriti. In caso di sovraccarico occlusale, ciò potrebbe condurre alla perdita dell'impianto²⁰.

Il produttore consiglia un fissaggio iniziale degli impianti inseriti ai denti adiacenti. A seguito dei risultati istologici, tale indicazione deve considerarsi fondata. Poiché nel presente studio questo tipo di fissaggio non era possibile, il carico è stato diminuito accorciando l'impianto di 2 mm in senso sopragengivale. È stato così possibile ottenere, nei test sperimentali, un'agevole integrazione ossea di tutti gli impianti.

CONCLUSIONI

Le sperimentazioni qui illustrate indicano come il sistema implantare esaminato in ceramica all'ossido di zirconio mostri un'elevata biocompatibilità e sia idoneo per un'integrazione ossea di buon livello.

BIBLIOGRAFIA

- Buser D, Mericske-Stern R, Bernard JP, Behneke A, Behneke N, Hirt HP, Belsler UC, Lang NP. Long-term evaluation of non-submerged ITI implants. Part 1: 8-year life table analysis of a prospective multi-center study with 2359 implants. *Clin Oral Implants Res* 1997;8:161-172.
- Adell R, Eriksson B, Lekholm U, Brånemark PI, Jemt T. Long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1990;5:347-359.
- Akagawa Y, Hosokawa R, Sato Y, Kamayama K. Comparison between freestanding and tooth-connected partially stabilized zirconia implants after two years' function in monkeys: A clinical and histologic study. *J Prosthet Dent* 1998;80:551-558.
- Schultze-Mosgau S, Schliephake H, Radespiel-Troger M, Neukam FW. Osseointegration of endodontic endosseous cones: Zirconium oxide vs titanium. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2000;89:91-98.
- Sennerby L, Dasmah A, Larsson B, Iverhed M. Bone tissue responses to surface-modified zirconia implants: A histomorphometric and removal torque study in the rabbit. *Clin Implant Dent Relat Res* 2005;7(Suppl 1):S13-20.
- Josset Y, Oum'Hamed Z, Zarrinpour A, Lorenzato M, Adnet JJ, Laurent-Maquin D. In vitro reactions of human osteoblasts in culture with zirconia and alumina ceramics. *J Biomed Mater Res* 1999;47:481-493.
- Gahlert M, Gudehus T, Eichhorn S, Steinhauser E, Kniha H, Erhardt W. Biomechanical and histomorphometric comparison between zirconia implants with varying surface textures and a titanium implant in the maxilla of miniature pigs. *Clin Oral Implants Res* 2007;18:662-668.
- Chang YS, Oka M, Nakamura T, Gu HO. Bone remodeling around implanted ceramics. *J Biomed Mater Res* 1996;30: 117-124.
- Berger TG, Feuerstein B, Strasser E, Hirsch U, Schreiner D, Schuler G, Schuler-Thurner B. Large-scale generation of mature monocyte-derived dendritic cells for clinical application in cell factories. *J Immunol Methods* 2002;268:131-140.
- Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The sage-schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol* 1982;11:318-326.
- Schulte W, Heimke G. Das Tübinger Sofort-Implantat. *Quintessenz* 1976;27:17-23.
- Schulte W, Kleinekenscheidt H, Lindner K, Schareyka R, Heimke G, Gerlach C, Hardegg W. Tierexperimente zur Frage der Einheilung des Tübinger Sofortimplantats. *Dtsch Zahnärztl Z* 1978;33:326-331.
- Schlegel A, Leitensdorfer B, Jakobsen M, Toutenburg H. Zur klinischen Bruchfestigkeit von Al₂O₃-Implantaten. *Zeitschr Zahnärztl Implantol* 1994;10:68-70.
- Oblak C, Jevnikar P, Kosmac T, Funduk N, Marion L. Fracture resistance and reliability of new zirconia posts. *J Prosthet Dent* 2004;91:342-348.
- Krekeler G, Kappert H, Pelz K, Graml B. Die Affinität der Plaque zu verschiedenen Werkstoffen. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1984;94:647-651.
- Johnson HJ, Northup SJ, Seagraves PA, Atallah M, Garvin PJ, Lin L, Darby TD. Biocompatibility test procedures for materials evaluation in vitro. II. Objective methods of toxicity assessment. *J Biomed Mater Res* 1985;19:489-508.
- Hao L, Lawrence J, Chian KS. Osteoblast cell adhesion on a laser modified zirconia based bioceramic. *J Mater Sci Mater Med* 2005;16:719-726.
- Fischer SE, Liu X, Mao HQ, Harden JL. Controlling cell adhesion to surfaces via associating bioactive triblock proteins. *Biomaterials* 2007;28:3325-3337.
- Schwarz F, Ferrari D, Herten M, Mihatovic I, Wieland M, Sager M, Becker J. Effects of surface hydrophilicity and microtopography on early stages of soft and hard tissue integration at non-submerged titanium implants: An immunohistochemical study in dogs. *J Periodontol* 2007;78:2171-2184.
- Duyck J, Naert I. Failure of oral implants: Aetiology, symptoms and influencing factors. *Clin Oral Investig* 1998;2:102-114.

Zirconia implants are now increasingly used in oral rehabilitation to improve the esthetic result while providing comparable therapeutic safety. The present study report describes cell-culture and animal experiments related to the biocompatibility and soft tissue integration of single-stage surface-structured zirconia implants (White-Sky, Bredent medical, Senden, Germany). The cell-culture experiment included groups of 32 specimens, each with sandblasted or machined zirconia surfaces or with a polished titanium surface. The specimens were incubated with cells reminiscent of SAOS-2-osteoblasts, examining cell proliferation at 2 hours, 2 days, 5 days, and 7 days by ATP assay ($n = 6$). Aspects of cellular morphology were examined under the scanner electron microscope ($n = 2$). The positive control consisted of tissue culture polystyrene not spiked with specimens. In the animal experiments, the mandibular molars of four dogs were extracted; after 2 months of healing, each animal received 2 surface-structured zirconia implants in a transgingival procedure. The implants were retrieved after 4, 14, 28, and 56 days ($n = 2$). Following histologic processing of the hard tissues, the specimens were examined, and the bone-implant contact (BIC) area was determined as an indicator of bony integration. Proliferation of SAOS-2 osteoblasts could be demonstrated on all tested surfaces, with the structured zirconia surface exhibiting a higher proliferation of cells than either the machined titanium surface or the sandblasted zirconia surface ($p < .05$, ANOVA). Scanner electron microscope studies showed comparable cell morphologies, although cell adhesion seemed to occur earlier on machined zirconia. Histomorphometric analysis showed that the BIC increased steadily over time, from 44.8% \pm 2.6% on day 4 to 59.5% \pm 1.2% on day 14, 63.5% \pm 2.6% on day 28 and 71.8% \pm 3.9% on day 56. Given the small number of cases ($n = 2$), no inductive statistical analysis of the BIC was performed. The examined zirconia implant system is highly biocompatible and osseointegrates rapidly, therefore meeting the requirements for dental implants.

Parole chiave: Zirconia, Implants, Biocompatibility, Bone-implant contact, Cell adhesion, Osteoblasts.

"Nuova clinica odontoiatrica cerca igienista in possesso di laurea, da inserire nel proprio organico"

Qui di seguito i nostri dati:
 ODONTOBI Srl - DENTAL CLINIC
 Via Aronco, 5 - 28053 CASTELLETO TICINO
 E-mail: odontobi@dente.it
 Tel. 0331/962405 - Fax. 0331/971545