

► E. GHENO¹, A. PALERMO², B. BUFFOLI³, L.F. RODELLA³

¹Libero professionista in Somma Lombardo, Varese

²Libero professionista in Lecce

³Sezione di Anatomia e Fisiopatologia, Dipartimento di Scienze Cliniche e Sperimentali, Università degli Studi di Brescia, Responsabile Prof. Rita Rezzani

L'utilizzo di blocchi di osso eterologo miscelati con fattori di crescita concentrati CGF (Concentrated Growth Factors) autologhi quale efficace combinazione per la rigenerazione ossea

TO CITE THIS ARTICLE

Gheno E, Palermo A, Buffoli B, Rodella LF. The effectiveness of the use of xenogeneic bone blocks mixed with autologous Concentrated Growth Factors (CGF) in bone regeneration techniques. *J Osseointegr* 2014;6(2):37-42.

KEYWORDS Aumento di cresta orizzontale; Aumento di cresta verticale; CGF; Rigenerazione ossea; Scaffold.

RIASSUNTO

Scopo Ad oggi, per l'incremento osseo preimpianto delle creste atrofiche, vengono utilizzati diversi tipi di biomateriali e di tecniche chirurgiche. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'uso combinato di CGF (Concentrated Growth Factors) con monoblocchi di scaffold osseo eterologo, miscelati per mezzo di un particolare omogeneizzatore, nelle procedure di aumento di cresta verticale e/o orizzontale.

Materiali e metodi Sono stati reclutati 7 pazienti (3 maschi e 4 femmine) che necessitavano di chirurgia orale riabilitativa. 3 impianti sono stati inseriti contestualmente alla fase di chirurgia orale e 4 impianti sono stati posizionati dopo 4 mesi dalla chirurgia per permettere la completa integrazione dell'innesto. Tutti gli impianti sono stati funzionalizzati dopo circa 4 mesi dall'inserimento dell'impianto stesso. Gli obiettivi di questo studio sono stati: a) definire la capacità di permeazione del CGF all'interno dello scaffold osseo; b) quantificare il grado di rigenerazione ossea ottenuto; c) definire il successo clinico.

Risultati I risultati ottenuti hanno evidenziato che: a) con l'apparecchio utilizzato è possibile permeare efficacemente monoblocchi di scaffold porosi con il CGF; b) lo scaffold così preparato si è dimostrato efficace nella rigenerazione ossea, come confermato dall'analisi istomorfometrica; c) tutti i casi sono attualmente protesizzati con successo, con un follow up di 12 mesi.

Conclusioni La tecnica proposta, eseguibile in ambito ambulatoriale ed in anestesia locale, può quindi essere considerata una valida alternativa per gli interventi di rigenerazione ossea.

INTRODUZIONE

La riabilitazione delle edentule parziali e totali per mezzo di impianti osteointegrati è diventata pratica comune negli ultimi decenni, supportata da risultati affidabili a lungo termine (1-11).

L'anatomia delle creste edentule può, tuttavia, essere sfavorevole all'inserimento di impianti; la presenza di un importante difetto osseo può, infatti, rendere difficoltoso se non impossibile l'inserimento di impianti a causa di un insufficiente volume osseo.

Ad oggi per far fronte ad importanti difetti ossei, vengono utilizzate numerose tecniche chirurgiche (12,13), spesso associate all'utilizzo di osso autologo, omologo o eterologo e di diversi tipi di biomateriali naturali o sintetici (6,14-17). L'osso autologo è considerato il "gold-standard" tra le procedure d'innesto osseo, vista la sua capacità osteogenica associata all'assenza di una risposta antigenica. Tuttavia, il suo utilizzo presenta degli svantaggi, tra cui la morbilità e la limitata disponibilità di siti donatori. In letteratura vi sono diversi studi che confrontano l'uso di osso autologo con l'impiego di sostituti d'osso e che propongono l'utilizzo di diversi tipi di osso eterologo per superare i limiti legati agli innesti di osso autologo. In particolare, diversi dati evidenziano come l'uso di biomateriali eterologhi risulta essere clinicamente altrettanto performante, sebbene la sua efficacia osteogenica possa dipendere dalla sua differente origine biologica (suino, bovino, equino eccetera) e dalla sua macro e microstruttura (17-23).

Accanto ai biomateriali, da alcuni anni, i preparati pia-

strinici utilizzati da soli o in combinazione con essi, rappresentano un'interessante strategia rigenerativa (24-25).

Il CGF (Concentrated Growth Factors) è un concentrato piastrinico in grado di trattenere, al suo interno, fattori di crescita autologhi e cellule del sangue (26) e di promuovere la rigenerazione ossea (27). Come gli altri concentrati piastrinici, il CGF viene isolato da campioni di sangue intero tramite un protocollo di separazione semplice e standardizzato, effettuato per mezzo di un'apposita centrifuga senza l'aggiunta di sostanze esogene. La principale caratteristica del CGF risiede nella sua consistenza: si tratta, infatti, di una matrice organica molto ricca in fibrina e quindi più densa rispetto agli altri concentrati piastrinici, caratteristica che lo rende idoneo a svariati impieghi; esso, infatti, può essere utilizzato da solo o insieme ad altri materiali come riempitivo o come sostegno per membrane sintetiche e biologiche.

Il CGF può essere miscelato con differenti biomateriali (granulari o in blocchi) all'interno di un apposito dispositivo.

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di standardizzare una tecnica chirurgica, al fine di renderla attuabile in ambito ambulatoriale ed in sola anestesia locale, valutando: a) la capacità di permeazione del CGF all'interno dello scaffold osseo; b) il grado di rigenerazione ossea ottenuto; c) il successo clinico.

MATERIALI E METODI

Selezione dei pazienti e pianificazione dell'intervento chirurgico

I pazienti sono stati selezionati escludendo coloro che presentavano controindicazioni assolute alla chirurgia. Per quanto riguarda i criteri di inclusione i pazienti dovevano presentare buone condizioni di salute generale e non essere forti fumatori (<10 sigarette/giorno).

Ogni paziente, un mese prima dell'intervento, è stato sottoposto a sedute di scaling e root-planing, associate ad adeguata motivazione ed istruzione all'igiene orale. La valutazione radiografica è stata eseguita prima

dell'intervento, il mese successivo ed ogni 6 mesi dopo il carico protesico.

Gli interventi chirurgici sono stati effettuati dal Dott. E. Gheno (Somma Lombardo, VA, Italia) e dal Dott. A. Palermo (Lecce, Italia). I trattamenti terapeutici rientranti nei materiali e metodi della ricerca sono stati eseguiti presso strutture sanitarie private, previo consenso informato personalizzato scritto di ciascun paziente. I materiali e le attrezzature utilizzati sono di libera vendita e da tempo commercializzati, pertanto non vi è alcun conflitto di interesse da parte degli autori.

In questo studio sono stati presi in considerazione 7 pazienti (3 maschi e 4 femmine con un'età compresa tra i 45 e i 63 anni) che necessitavano di chirurgia orale riabilitativa (4 in sede mascellare e 3 in sede mandibolare). Ogni paziente ha fornito consenso informato scritto per la chirurgia implantare. I pazienti sono stati suddivisi in due gruppi. Gruppo 1 (n=3): gli impianti SPI (Alpha Bio Tec, Israele) ed Ankylos (Dentsply, Bologna) sono stati inseriti contestualmente all'intervento di chirurgia orale (impianti contestuali); gruppo 2 (n=4): gli impianti (SPI; Alpha Bio Tec, Israele - Ankylos; Dentsply, Bologna) sono stati inseriti, a distanza di 4 mesi (impianti differiti), alla completa integrazione dell'innesto. La scelta degli impianti utilizzati ha preso in considerazione la nostra esperienza e la necessità di fornire rapidamente una buona stabilità. Sono stati utilizzati due impianti (3.3 e 3.5) in relazione al blocco d'innesto, mentre la lunghezza è stata scelta in base alla necessità anatomica. Inoltre, al fine di valutare al meglio il volume e la qualità ossea, sono state effettuate appropriate misurazioni 3D.

Preparazione del CGF e permeazione del blocco di biomateriale

È stato eseguito un prelievo di sangue venoso (4 campioni da 9 ml) per ogni paziente. I campioni di sangue sono stati centrifugati per mezzo dell'apposita macchina (Medifuge MF200; Silfradent, Santa Sofia - FC) per l'ottenimento del CGF (Fig. 1), in accordo con le procedure suggerite dal produttore.

Il CGF così ottenuto è stato miscelato meccanicamente a blocchi eterologhi collagenati di biomateriale (Sp-

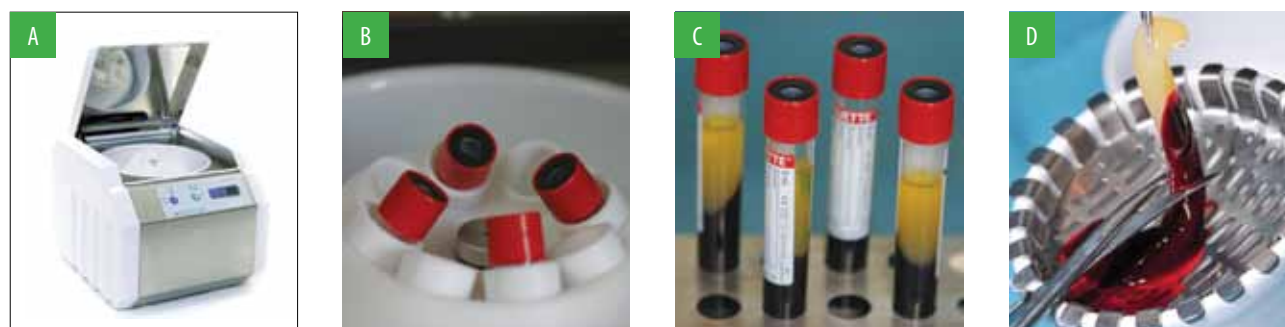


FIG. 1 Preparazione del CGF per mezzo della Centrifuga Medifuge (Silfradent srl). A. Centrifuga Medifuge; B. Inserimento bilanciato delle provette nella centrifuga; C. Provette dopo la fase di centrifugazione; D. Isolamento del CGF.

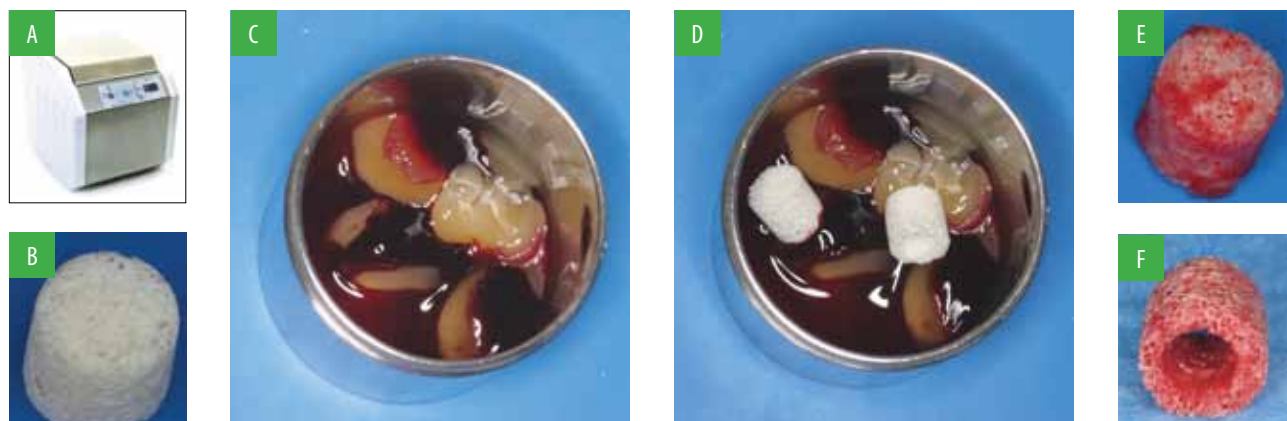


FIG. 2 Permeazione dello scaffold (SP-Block, OsteoBiol by Tecnos) tramite l'utilizzo del Round Up (Silfradent srl). A. Round Up; B. Scaffold (C-Block Hard, OsteoBiol by Tecnos); C. Posizionamento del CGF nell'apposito supporto del Round Up; D. Inserimento dello scaffold nell'apposito supporto del Round Up; E-F. Scaffold di C-Block Hard permeato di CGF.

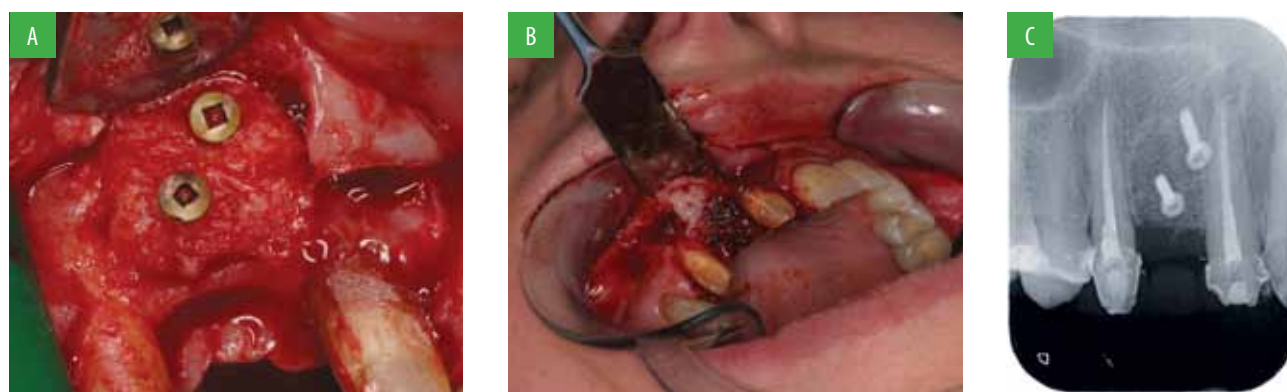


FIG. 3 A. Posizionamento e stabilizzazione di SP-Block (OsteoBiol by Tecnos); B. Protezione dell'innesto con membrane di CGF. C. Radiografia del blocco posizionato.

Block OsteoBiol® e C-Block, Tecnos, Coazze) utilizzando l'apposito dispositivo Round Up (Silfradent, Santa Sofia - FC).

I blocchi di biomateriale permeato di CGF (Fig. 2) sono stati, quindi, utilizzati per l'aumento di cresta orizzontale (SP-Square Block) e verticale (C-Cylinder Block).

Fasi dell'intervento

È stata somministrata l'anestesia locale plessica (articaina 4% con adrenalina 1:100.000). Successivamente, il primo passaggio chirurgico è stato l'apertura di un lembo e lo scollamento a tutto spessore per consentire la misurazione e la valutazione delle dimensioni del blocco da utilizzare. È stata, quindi, effettuata una decorticazione del sito ricevente per favorire l'attecchimento e l'accoppiamento dell'innesto.

Dopo aver preparato il letto implantare, l'innesto Sp-Block o C-Block più CGF è stato inserito e fissato con viti da osteosintesi (Fig. 3A, 4A) o per mezzo dell'impianto stesso (impianti contestuali), a seconda dell'inserimento contestuale o differito dell'impianto. L'innesto Sp-Block è

stato utilizzato per effettuare un aumento di cresta orizzontale mentre il C-Block è stato utilizzato per l'aumento di cresta verticale. Il lembo è stato mobilizzato con delle incisioni periostali e i gap marginali sono stati riempiti con materiale da innesto a lento riassorbimento, sempre miscelato con CGF. Infine, è stata apposta una membrana riassorbibile OsteoBiol® Evolution (Tecnos, Italy) (Fig. 3B) ed effettuata una sutura priva di tensioni. Il paziente è stato, quindi, invitato ad utilizzare ghiaccio durante le prime 12 ore ed a seguire una dieta "morbida" per tutto il primo mese; è stata, inoltre, somministrata una terapia antibiotica ed anti-infiammatoria. Nei casi di impianti inseriti contestualmente alla chirurgia, dopo circa 4 mesi, è stata effettuata la funzionalizzazione con protesi provvisoria e successivamente con protesi definitiva in ceramica. Nel caso di impianti differiti, alla completa integrazione dell'innesto, cioè dopo circa 4 mesi, è stato effettuato l'inserimento dell'impianto e contestualmente prelevata la carota ossea per l'analisi istomorfometrica, utilizzando una fresa trephine (2 µm) per la preparazione del sito implantare (Fig. 5); in quest'ultimo caso, la fun-

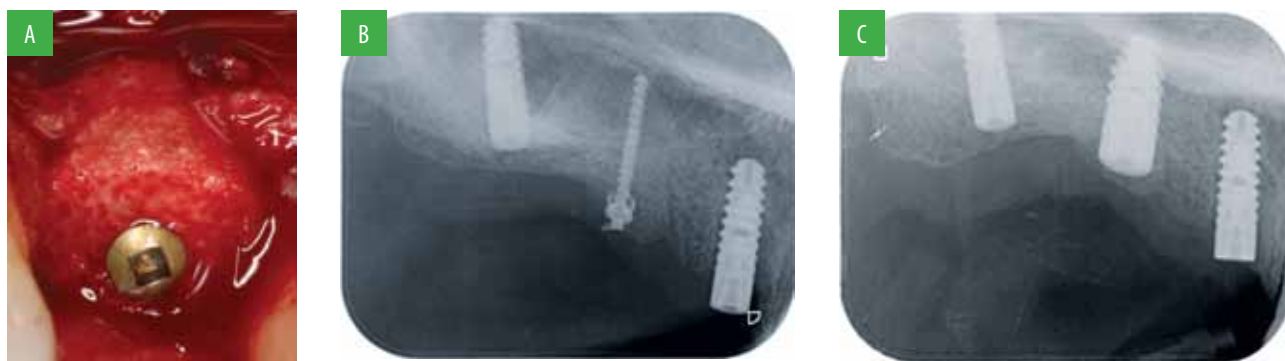


FIG. 4 A. Posizionamento e stabilizzazione di C-Block (Osteobiol by Tecnos); B. Radiografia del blocco posizionato; C. Radiografia dell'impianto inserito.



FIG. 5 A. Preparazione del sito implantare tramite fresa carotatrice; B. Sito preparato; C. Carota ossea estratta; D. Posizionamento impianto SPI (Alpha Bio) E. Radiografia dell'impianto inserito.

zionalizzazione è stata eseguita dopo altri 4 mesi dall'inserimento dell'impianto.

Valutazione clinica e istomorfometrica

La valutazione del successo terapeutico è stata basata su una valutazione clinica diretta (assenza di mobilità e dolore, assenza di sanguinamento al sondaggio) e sui rilievi radiologici per valutare i picchi ossei (Fig. 3C, 4B, 4C).

La valutazione istomorfometrica delle carote ossee ottenute dalla preparazione del sito implantare (Fig. 6) è stata effettuata presso la Sezione di Anatomia e Fisiopatologia. I campioni sono stati fissati in formalina tamponata 10%, decalcificati in Osteodec (Bio-Optica, Italia) e inclusi in paraffina in accordo con le procedure standard. Per ciascun campione, sono state ottenute sezioni dello spessore di 7 μ m che sono poi state colorate con ematossilina-eosina



(Bio-Optica, Italia). L'analisi istomorfometrica è stata eseguita al microscopio ottico (Olympus, Germania) da operatori inconsapevoli del gruppo assegnatogli. Le immagini (5 campi per ogni campione) sono state analizzate utilizzando un apposito software d'analisi d'immagine (Image Pro-Plus 4.5.1, Immagini e Computer, Italia) che ha permesso di misurare la percentuale di osso neoformato (NB), la percentuale di tessuto non mineralizzato (n-MT) e la percentuale

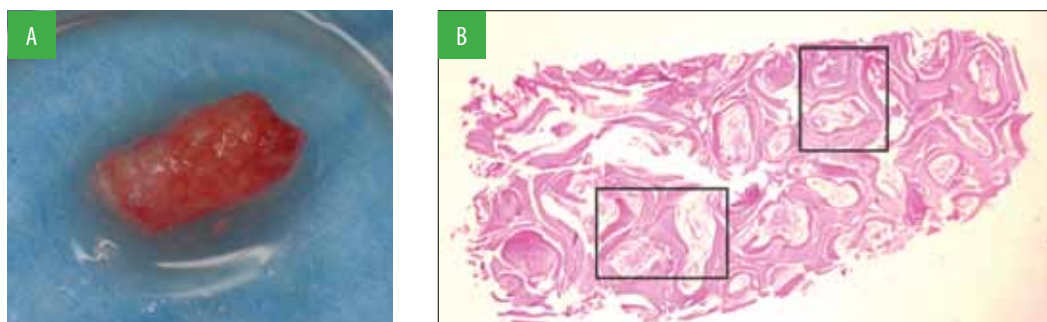


FIG. 6 A. Carota ossea; B. Istologia: Ematossilina -Eosina.

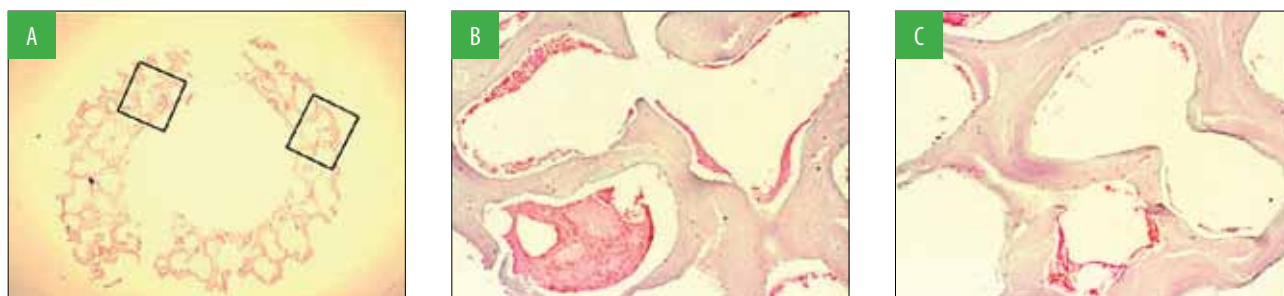


FIG. 7 A-C Aspetti istologici dello scaffold C-Block Hard permeato di CGF (freccia).

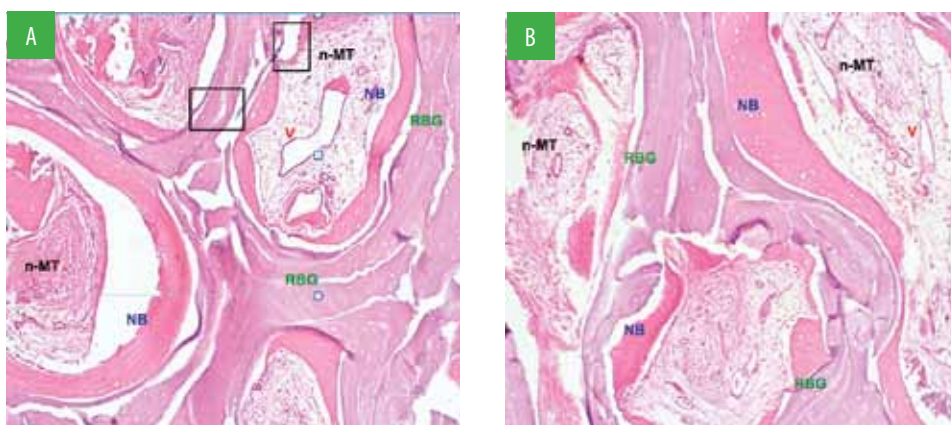


FIG. 8 Analisi istomorfometrica.

A. Aumento cresta verticale con C-Block. New Bone: (NB) 30.40 +/- 0.57%, non-Mineralized Tissue (n-MT): 34.52 +/- 1.42%, Residual Bone Graft (RBG): 35.08 +/- 1.42%; B. Aumento di cresta orizzontale con SP-Block. New Bone (NB): 46.59 +/- 3.28%, non-Mineralized Tissue (n-MT): 48.61 +/- 2.49%, Residual Bone Graft (RBG): 2.73 +/- 0.87%.

	NB	N-MT	RG
Aumento verticale	30.40 +/- 0.57	34.52 +/- 1.42	35.08 +/- 1.42
Aumento orizzontale	46.59 +/- 3.28	48.61 +/- 2.49	2.73 +/- 0.87

TAB. 1 Analisi istomorfometrica: I dati quantitativi sono espressi come media della percentuale d'area \pm SEM. Osso neoformato (NB); Tessuto non mineralizzato (n-MT), Biomateriale residuo (RG). New Bone (NB); non-Mineralized Tissue (n-MT), Residual Graft (RG).

di biomateriale residuo (RBG). I dati istomorfometrici sono stati riportati come media \pm SEM.

RISULTATI

I risultati istologici hanno evidenziato, come prima cosa, che con il Round Up è possibile permeare efficacemente monoblocchi di scaffold porosi con il CGF (Fig. 7). Per quanto riguarda l'analisi istomorfometrica delle carote ossee ottenute dalla preparazione del sito implantare (Fig. 8), oltre a tessuto non mineralizzato (n-MT), è possibile osservare trabecole di tessuto osseo neoformato (NB) e biomateriale residuo (RBG) non ancora riassorbito. I dati relativi alle percentuali ottenute sono riportati nella Tabella 1. I casi presentati in questo studio sono tutti attualmente

protesizzati con successo, con un follow up minimo di 12 mesi. Alla valutazione clinica, tutti i casi presi in esame non hanno evidenziato mobilità implantare, dolore e sanguinamento al sondaggio. I rilievi radiologici hanno mostrato, inoltre, una buona integrazione dell'impianto in entrambe le tipologie di innesto.

È, inoltre, opportuno sottolineare che la specifica forma degli impianti SPI (Alpha Bio) ed Ankylos (Dentsply) ha garantito una notevole stabilità implantare, sia pure andando ad utilizzare come ancoraggio, in fase di guarigione, solo il terzo apicale dell'impianto.

DISCUSSIONE

Diversi tipi di tecniche e biomateriali vengono oggi utilizzati per l'incremento osseo preimplantare delle creste atrofiche (1-25). I dati della letteratura evidenziano che non esiste una procedura migliore delle altre, ma è compito del chirurgo orale trovare la tecnica migliore per lo specifico caso e, in particolare, quella che permetta di contenere maggiormente i rischi operatori, i costi ed i tempi di riabilitazione (28-31). Diversi tipi di biomateriali vengono utilizzati in associazione alle diverse tecniche chirurgiche e numerosi dati supportano l'efficacia dell'utilizzo di sostituti d'osso eterologo di origine animale (bovina, equina, suina) (15-20,32-34). Accanto all'utilizzo di questi biomateriali è stato, inoltre, valutato l'uso di differenti preparazioni di concentrati

piastrinici ed i risultati ottenuti sembrano promettenti (24,25,27,35). Uno degli obiettivi di questo lavoro è stato quello di valutare l'efficacia dell'utilizzo di una combinazione di osso eterologo di origine equina con il CGF per la rigenerazione ossea preimplantare.

I nostri risultati hanno evidenziato, come prima cosa, che con il Round Up è possibile permeare efficacemente monoblocchi di scaffold porosi con il CGF; in questo modo le caratteristiche meccaniche dello scaffold e l'attività biologica del CGF vengono a sommarsi costituendo un efficace mezzo per la rigenerazione ossea, dove il CGF può contribuire a una migliore e più rapida riparazione dei tessuti sia molli che duri, confermando l'effetto rigenerativo dei concentrati piastrinici sull'osso.

Lo scaffold così preparato si è, quindi, dimostrato efficace nella rigenerazione ossea. L'analisi istomorfometrica delle carote ossee ottenute dalla preparazione dei siti implantari ha, infatti, chiaramente dimostrato che dopo 4 mesi dall'innesto, è possibile osservare un buon grado di rigenerazione ossea, necessario per la corretta integrazione dell'impianto; tali dati sono stati confermati dai rilievi radiologici effettuati e dall'assenza di alterazioni cliniche di particolare interesse. Tuttavia, il numero limitato di pazienti reclutati in questo studio richiede sicuramente la necessità di effettuare in futuro ulteriori studi.

CONCLUSIONI

Il futuro della ricerca scientifica sarà sempre più indirizzato allo studio di materiali eterologhi che possano sostituire completamente l'impiego di osso autogeno, risolvendo tutte le complicità e gli svantaggi derivanti dalla necessità di prelievi ossei da siti endorali o extraorali.

Il rispetto rigoroso di tale protocollo chirurgico ha permesso di eseguire questa tecnica in ambito ambulatoriale ed in anestesia locale. Riteniamo pertanto che la tecnica proposta, laddove ulteriormente validata, possa essere considerata un'ottima alternativa per gli interventi di rigenerazione ossea.

BIBLIOGRAFIA

- Arvidson K, Bystedt H, Frykholm A, von Konow L, Lothigius E. Five-year prospective follow-up report of Astra tech implant system in the treatment of edentulous mandibles. *Clin Oral Implants Res* 1998;9:225-34.
- Carlsson GE, Omar R. The future of complete dentures in oral rehabilitation. A critical review. *J Oral Rehabil* 2010;37:143-56.
- Esposito M, Murray-Curtis L, Grusovin MG, Coulthard P, Worthington HV. Interventions for replacing missing teeth: different types of dental implants. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;(4):CD003815.
- Javed F, Ahmed HB, Crespi R, Romanos GE. Role of primary stability for successful osseointegration of dental implants: Factors of influence and evaluation. *Interv Med Appl Sci* 2013;5:162-7.
- Leonhardt A, Grondahl K, Bergstrom C, Lekholm U. Long-term follow-up of osseointegrated titanium implants using clinical, radiographic and microbiological parameters. *Clin Oral Implants Res* 2002;13:127-32.
- Mamalis A, Markopoulou K, Kaloumenos K, Analitis A. Splinting osseointegrated implants and natural teeth in partially edentulous patients: a systematic review of the literature. *J Oral Implantol* 2012;38:424-34.
- Margonar R, dos Santos PL, Queiroz TP, Marcantonio E. Rehabilitation of atrophic maxilla using the combination of autogenous and allogeneic bone grafts followed by protocol-type prosthesis. *J Craniofac Surg* 2010;21:1894-6.
- Meyle J, Gersok G, Boedeker RH, Gonzales JR. Long term analysis of osseointegrated implants in non-smoker patients with a previous history of periodontitis. *J Clin Periodontol* 2014 doi: 10.1111/jcpe.12237 (In Press).
- Parithimarkalaigan S, Padmanabhan TV. Osseointegration: An Update. *J Indian Prosthodont Soc.* 2013;13:2-6.
- Warreth A, McAleese E, McDonnell P, Slami R, Guray SM. Dental implants and single implant-supported restorations. *J Ir Dent Assoc* 2013;59:32-43.
- Weber HP, Crohin CC, Fiorellini JP. A five-year clinical and radiographic study of non submerged dental implants. *Clin Oral Impl Res* 2000;11:144-53.
- Kan JY, Lozada JL, Goodacre CJ et al. Mandibular fracture after endosseous implant placement in conjunction with inferior nerve transposition: a patient treatment report. *Int. J Oral Maxillofac Implants* 2006;21:86-93.
- Felice P, Checchi V, Pistilli R, Scarano A, Pellegrino G, Esposito M. Bone augmentation versus 5 mm dental implants in posterior atrophic jaws. Four month post loading results from a randomized controlled clinical trial. *Eur J Oral Implantol* 2009;2:267-81.
- Acocella A, Sacco R, Niardi P, Agostini T. Early implant placement in bilateral sinus floor augmentation using iliac bone block grafts in severe maxillary atrophy: a clinical, histological, and radiographic case report. *J Oral Implantol* 2009;35:37-44.
- Artese L, Piattelli A, Di Stefano DA, Piccirilli M, Pagnutti S, D'Alimonte E, Perrotti V. Sinus lift with autologous bone alone or in addition to equine bone: an immunohistochemical study in man. *Implant Dent* 2011;20:383-8.
- Buffoli B, Boninsegna R, Rezzani R, Poli PP, Santoro F, Rodella LF. Histomorphometrical evaluation of fresh frozen bone allografts for alveolar bone reconstruction: preliminary cases comparing femoral head with iliac crest grafts. *Clin Implant Dent Relat Res* 2013;15:791-8
- Di Stefano DA, Artese L, Iezzi G, Piattelli A, Pagnutti S, Piccirilli M, Perrotti V. Alveolar ridge regeneration with equine spongy bone: a clinical, histological, and immunohistochemical case series. *Clin Implant Dent Relat Res* 2009;11:90-100.
- Di Stefano DA, Cazzaniga A, Andreasi Bassi M, Ludovichetti M, Ammirabile G, Celletti R. The use of cortical heterologous sheets for sinus lift bone grafting: a modification of Tulasne's technique with 7-year follow-up. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2013;26:549-56.
- Felice P, Marchetti C, Piattelli A, Pellegrino G, Checchi V, Worthington H, et al. Vertical ridge augmentation of the atrophic posterior mandible with interpositional block graft: bone from the iliac crest versus bovine anorganic bone. *Eur J Oral Implantol* 2008; 1:183-98.
- Felice P, Marchetti C, Iezzi G, Piattelli A, Worthington H, Pellegrino G, et al. Vertical ridge augmentation of the atrophic posterior mandible with interpositional block graft: bone from the iliac crest vs bovine anorganic bone. Clinical and histological result up to one year after loading from a randomized-controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res* 2009;20:1386-93.
- Felice P, Piattelli A, Iezzi G, Degidi M, Marchetti C. Reconstruction of an atrophied posterior mandible with the inlay technique and inorganic bovine bone block: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2010;30:583-91.
- Merli M, Migani M, Esposito M. Vertical ridge augmentation with autogenous bone graft: resorbable barriers supported by osteosynthesis plates versus titanium-reinforced barriers. A preliminary report of a blinded, randomized controlled clinical trial. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007;22:373-82.
- Tetè S, Vinci R, Zizzari VL, Zara S, La Scala V, Cataldi A, Gherlone E, Piattelli A. Maxillary sinus augmentation procedures through equine-derived biomaterial or calvaria autologous bone: immunohistochemical evaluation

- of OPG/RANKL in humans. *Eur J Histochem* 2013;57:e10.
24. Del Corso M, Vervelle A, Simonpieri A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 1: Periodontal and dentoalveolar surgery. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13:1207-30.
 25. Simonpieri A, Del Corso M, Vervelle A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 2: Bone graft, implant and reconstructive surgery. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13:1231-56.
 26. Rodella LF, 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;74:772-7.
 27. Sohn DS, Heo JU, Kwak DH, Kim DE, Kim JM, Moon JW, Lee JH, Park IS. Bone regeneration in the maxillary sinus using an autologous fibrin-rich block with concentrated growth factors alone. *Implant Dent* 2011;20:389-95.
 28. Felice P, Pistilli R, Lizio G, Pellegrino G, Nisii A, Marchetti C. Inlay versus onlay iliac bone grafting in atrophic posterior mandible: a prospective controlled clinical trial for the comparison of the two techniques. *Clin Implant Dent Relat Res* 2009;11:69-82.
 29. Chiapasco M, Romeo E, Casentini P, Rimondini L. Alveolar distraction osteogenesis vs. vertical guided bone regeneration for the correction of vertically deficient edentulous ridges: a 1-3 years prospective study on humans. *Clin Oral Implants Res* 2004;15:82-95.
 30. Chiapasco M, Zaniboni M, Rimondini L. Autogenous onlay bone graft vs. alveolar distraction osteogenesis for the correction of vertically deficient edentulous ridges: a 2-4 years prospective study on humans. *Clin Oral Implants Res* 2007;18:432-40.
 31. Bianchi A, Felice P, Lizio G, Marchetti C. Alveolar distraction osteogenesis versus inlay bone grafting in posterior mandibular atrophy: a prospective study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105:282-92.
 32. Perrotti V, Nicholls BM. Resorption pattern of a porcine-derived bone substitute. *J Osseointegr* 2009; 1: 22-8.
 33. Scarano A, Piattelli A, Assenza B, Quaranta A, Perrotti V, Piattelli M, Iezzi G. Porcine bone used in sinus augmentation procedures: a 5-year retrospective clinical evaluation. *J Oral Maxillofac Surg* 2010;68:1869-73.
 34. Scarano A, Piattelli A, Perrotti V, Manzon L, Iezzi G. Maxillary sinus augmentation in humans using cortical porcine bone: a histological and histomorphometrical evaluation after 4 and 6 months. *Clin Implant Dent Relat Res* 2011; 13:13-8.
 35. Honda H, Tamai N, Naka N, Yoshikawa H, Myoui A. Bone tissue engineering with bone marrow-derived stromal cells integrated with concentrated growth factor in *Rattus norvegicus* calvaria defect model. *J Artif Organs* 2013; 16:305-15.