



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Corso di Laurea in Odontoiatria e Protesi Dentaria

Presidente: Prof. Maurizio Procaccini

**IL RUOLO DEGLI EMOCONCENTRATI PIASTRINICI PER
MIGLIORARE LA RIGENERAZIONE OSSEA A LIVELLO DEL SENO
MASCELLARE**

**STUDIO SPERIMENTALE COMPARATIVO TRA CONCENTRATED
GROWTH FACTORS CGF E DEPROTEINIZED BOVINE BONE
MATRIX DBBM**

Relatore: Chiar.mo

Prof. Mauro Merli

Tesi di Laurea di:

Domitilla Ravot Licheri

Correlatore: Chiar.mo

Prof. Matteo Piemontese

A.A. 2019/2020

RINGRAZIAMENTI

Vorrei dedicare questo spazio a chi, con dedizione e pazienza, ha contribuito alla realizzazione di questo elaborato.

Un ringraziamento particolare va al mio relatore il prof. Mauro Merli che mi ha seguito, con la sua infinita disponibilità, in ogni step della realizzazione dell'elaborato, fin dalla scelta dell'argomento.

Grazie anche al mio correlatore il prof. Matteo Piemontese, sempre pronto ad aiutarmi e a darmi le giuste indicazioni durante il tirocinio.

Vorrei ringraziare anche il prof. Nieri per i suoi preziosi consigli e per avermi suggerito puntualmente le giuste modifiche da apportare alla mia tesi.

INDICE

1. Introduzione
2. Concentrati Piastrinici
 - 2.1. Storia dei concentrati piastrinici
 - 2.2. CGF
3. Materiali da innesto
4. Fattori Bioattivi
 - 4.1. TGF- β
 - 4.2. PDGF
 - 4.3. BMP
 - 4.4. FGF
 - 4.5. VEGF
 - 4.6. IGF
5. Rialzo di seno mascellare
6. Materiali e metodi
 - 6.1. Partecipanti
 - 6.2. Preparazione CGF
 - 6.3. Intervento
 - 6.4. Outcomes
 - 6.5. Metodo statistico
7. Risultati
8. Discussione
9. Conclusioni
10. Bibliografia

1. INTRODUZIONE

A seguito della perdita di elementi dentali si rende necessaria una riabilitazione per provvedere a sopperire alle problematiche funzionali ed estetiche che possono insorgere. Nel caso del mascellare superiore nella zona posteriore l'utilizzo di tecniche rigenerative può essere combinato all'inserimento di impianti nei casi che lo necessitano. La rigenerazione è stata definita dall'American Accademy of Periodontology nel 1992 come la riproduzione o la ricostruzione di una parte distrutta o deteriorata, in modo tale da ripristinare la struttura e la funzionalità dei tessuti interessati. Negli ultimi decenni è aumentato l'interesse nei confronti delle tecniche chirurgiche di rigenerazione e dei biomateriali utilizzati, sia di origine sintetica che naturale (animale o umana). Con l'utilizzo di questi materiali si cerca di promuovere, migliorare ed accelerare la guarigione e la rigenerazione dei nostri tessuti con una restitutio ad integrum, quando è possibile, oppure una riparazione. A seconda della natura dei biomateriali e delle componenti, può essere più o meno accentuata l'induzione dei processi di differenziazione cellulare e quindi della guarigione.

2. CONCENTRATI PIASTRINICI

Dagli anni '90 una parte della ricerca si è rivolta ai biomateriali derivati da prelievi autologhi di sangue, che al loro interno possono contenere fattori di crescita, proteine, leucociti, piastrine e/o fibrina in diverse percentuali in base alla metodica con cui vengono processati e poi utilizzati. Attraverso un prelievo di sangue venoso e la sua seguente centrifugazione, possiamo ottenere svariate tipologie di concentrati piastrinici (platelet concentrates, PCs) modificando la velocità e le tempistiche.

Negli ultimi anni i concentrati piastrinici, soprattutto L-PRF, sono stati utilizzati nelle procedure di rialzo del pavimento del seno da soli oppure in associazione con altri materiali. È stato evidenziato come questa combinazione sia un valore aggiunto nelle procedure. La review sistematica di Castro et al. del 2017 mostra che si ottengono risultati migliori quando L-PRF viene utilizzato in combinazione con altri materiali da innesto. Allo stesso tempo, in diversi case report e case series, viene analizzato l'utilizzo del L-PRF come unico materiale da innesto in procedure di rialzo di seno con approccio laterale e posizionamento immediato degli impianti. Sia a 6 mesi (Mazor et al. 2009, Simonpieri et al. 2011) che a 1 anno (Tajima et al. 2013) si osservava un certo guadagno osseo da poter affermare che L-PRF, come singolo materiale, può promuovere una naturale rigenerazione ossea producendo un tessuto denso, anche quando vengono inseriti gli impianti simultaneamente all'intervento.

Gli emoconcentrati piastrinici sono stati suggeriti come materiali per le procedure di rigenerazione ossea anche grazie alla loro caratteristica di poter rilasciare costantemente fattori di crescita (Castro et al. 2017). Le loro proprietà biologiche possono migliorare e facilitare il processo di osteointegrazione (Öncü et al. 2016). Nel 2012 Tatullo et al. in un loro articolo mostrano quale possa essere il potenziale rigenerativo del PRF quando viene utilizzato nei rialzi di seno. L'utilizzo del PRF e le tecniche

piezoelettriche hanno la capacità di accorciare i tempi di guarigione a 106 giorni, rispetto ai 120-150 descritti in letteratura. A 106 giorni è possibile ottenere un'ottima stabilità primaria degli impianti, senza caricarli funzionalmente. Sempre nello stesso articolo gli autori affermano che il PRF elimina qualsiasi rischio di trasmissione di malattie, che la sua consistenza gelatinosa favorisce la stabilità del coagulo e che se utilizzato sotto forma di membrana permette di creare un naturale effetto barriera.

L'applicazione dei concentrati piastrinici in letteratura spazia notevolmente e può riguardare dalla preservazione dell'alveolo post-estrattivo, alla terapia implantare, fino alla procedura del rialzo di seno.

La procedura di rialzo di seno è una tecnica diffusamente utilizzata per la gestione di zone edentule e già nel 1996 durante il Sinus Consensus Conference erano tutti d'accordo nel dire che il rialzo di seno è una procedura efficace (Jensen 1998). Anche nel momento in cui dovessero insorgere delle complicazioni durante questa procedura (come la lacerazione della membrana di Schneider, l'infezione dell'innesto o la perdita degli impianti), è raro che avvenga una complicazione a lungo termine a carico del seno. La capacità riparativa del rivestimento sinusale è ottimale e rapida e la cavità torna nel suo fisiologico stato sterile in breve tempo dopo la guarigione della ferita con materiale da innesto (Jensen 1998). Una review sistematica di Wallace e Froum del 2003 mostra che la sopravvivenza degli impianti posti a seguito di un rialzo di seno è maggiore quando una membrana viene posta a livello della finestra laterale. Le membrane che possono essere utilizzate possono essere riassorbibili, tra cui quelle in collagene (Bio-Gide®), in acido ialuronico o derivanti da emocostratti piastrinici, oppure non riassorbibili (come quelle in politetrafluoroetilene, e-PTFE). L'utilizzo di membrane riassorbibili in collagene o in acido ialuronico stimola la secrezione di collagene di tipo I, TGF- β 1 e fosfatasi alcaline e promuove la rigenerazione ossea attraverso la loro attività sugli osteoblasti in modo maggiore rispetto alle membrane non riassorbibili in PTFE (Marinucci et al. 2001).

La ragione per cui si è iniziato a utilizzare membrane di emoconcentrati piastrinici, come quelle in PRF per coprire la finestra laterale, si basa sul loro naturale coinvolgimento della fibrina nel processo di guarigione della ferita. Il PRF ha la capacità di polimerizzare e formare una struttura tridimensionale che riesce a catturare cellule e fattori di crescita e questo sembra essere un vantaggio fondamentale nel processo di guarigione (Dohan et al. 2006b).

Nel momento in cui, nelle procedure di rialzo del pavimento del seno mascellare, l'utilizzo di membrane in collagene (Bio-Gide®) per coprire la finestra laterale porta a dei risultati clinicamente comparabili a quelli in cui vengono utilizzate delle membrane a base di concentrati piastrinici, bisogna indagare su quali siano i vantaggi che ci sarebbero adoperandone una o l'altra. L'utilizzo degli emoconcentrati piastrinici può essere vantaggioso sotto diversi fronti. Il materiale è al 100% biocompatibile con il ricevente. In più, reperire il materiale da innesto è economico, rapido e può essere effettuato direttamente dal clinico. Al giorno d'oggi, sia il fattore economico che il fattore tempo giocano un ruolo fondamentale nelle scelte terapeutiche di un clinico. Per questo l'utilizzo degli emoconcentrati piastrinici appartenenti alle nuove generazioni (partendo dal PRF di Choukroun in poi) viene considerata un'ottima metodica: questi PCs sono economici e veloci da ottenere. Uno studio riguardante il rapporto costo/beneficio dei PCs è stato fatto prendendo in considerazione il PRP, ma visto che il PRP era una metodica costosa rispetto al PRF e al CGF, i risultati mostravano come l'utilizzo del PRP non desse nessun vantaggio economico (Listl et al. 2010). In uno studio successivo del 2013, Gassling et al. affermano, invece, che l'utilizzo del PRF può essere vantaggioso nei casi in cui le risorse economiche sono limitate e quindi può essere considerato una valida alternativa sicura ed economica alle classiche membrane riassorbibili in collagene.

In aggiunta, i concentrati piastrinici hanno la caratteristica di essere versatili e di poter essere utilizzati in diversi modi e con diversi scopi. La letteratura ci dice che il PRF nella procedura di rialzo di seno può essere utilizzato come materiale da innesto da solo o in combinazione di altri sostituti ossei, può essere utilizzato nei casi di perforazione della membrana e per chiudere la finestra laterale (Nyush 2017).

L'utilizzo di questi PCs può essere vantaggioso non solo ai fini della rigenerazione ossea, ma anche nei casi in cui insorgano delle complicazioni. La perforazione della membrana è la complicazione più frequente nel rialzo di seno mascellare e ha un'incidenza che varia dal 7% al 35% (Schwartz-Arad et al. 2004). Nella metanalisi di Al-Dajani del 2016, in cui vengono presi in considerazione 1652 rialzi di seno di 12 studi diversi, l'incidenza di questa complicanza risulta essere del 23,5% (con un intervallo di confidenza del 95%, 21,1-25,8). In uno studio è stato osservato che la complicanza della perforazione avviene meno frequentemente in pazienti sottoposti a sedazione e che avviene con un'incidenza del 5,52% (Merli et al. 2016). La perforazione della membrana di Schneider può avvenire in diversi momenti della procedura chirurgica: durante l'apertura della finestra, nel distaccare la membrana dalla parete ossea o nel posizionamento del materiale da innesto. Sempre nella metanalisi di Al-Dajani del 2016 sono stati valutati possibili fattori di rischio e classificati in 3 diverse categorie:

1. Fattori di rischio anatomici: la presenza di setti nel seno (il loro numero, la localizzazione e la tipologia) e lo spessore della membrana Schneideriana (se sottile);
2. Fattori di rischio chirurgici: la tecnica chirurgica utilizzata (finestra laterale o tecnica osteotomica) e l'utilizzo o meno di strumenti piezoelettrici, che diminuisce l'incidenza di perforazione;
3. Fattori di rischio legati a patologie: la presenza di sinusiti o modificazioni della membrana dovute a un'infezione.

Una piccola perforazione può rilevarsi insignificante e potrebbe non aver bisogno di essere riparata, ma in una perforazione con un diametro consistente bisogna intervenire (Öncü e Kaymaz 2017). Sono state classificate da Vlassis e Fugazzotto nel 1999 e poi successivamente sintetizzate in una nuova classificazione (Fugazzotto e Vlassis 2003). In base alla categoria a cui appartengono le perforazioni, vengono date una o più tecniche consigliate nella gestione di questa complicazione. Tipicamente le perforazioni vengono coperte con membrane-barriera riassorbibili di collagene (Bio-Gide®), ma si è visto come i concentrati piastrinici possono essere un'ottima alternativa. Il PRF è un materiale completamente autogeno, bioattivo e poco costoso (Öncü e Kaymaz 2017). L'utilizzo di membrane in PRF è stato reso possibile grazie alla loro consistenza, che gli permette di aderire come una membrana di fibrina appiccicosa e riparare rapidamente la perforazione, permettendo il successivo inserimento del materiale da innesto e degli impianti. Le membrane di PRF possono essere utilizzate sole o in combinazione con membrane di collagene a discrezione dell'operatore. La scelta varia in base alla dimensione della perforazione, ma fino a 3 mm si può utilizzare solo un doppio strato di membrane in PRF. L'utilizzo della doppia membrana è raccomandato per avere un'adeguata copertura e un periodo di riassorbimento prolungato da 10 a 14 giorni, quando le membrane di PRF vengono utilizzate da sole (Nyush 2017).

Un ulteriore vantaggio, che l'utilizzo delle membrane di PRF può apportare all'intervento di rialzo di seno, è il fatto che queste possono essere utilizzate per proteggere la membrana Schneideriana da danni durante l'inserimento implantare (Nyush 2017).

2.1. STORIA DEI CONCENTRATI PIASTRINICI

Uno dei primi studi a riguardo dei concentrati piastrinici è stato condotto da Marx et al. nel 1998 dopo anni di ricerca nel campo degli emocomponenti. L'idea iniziale è scaturita dai promettenti risultati di un lavoro precedente del 1994 di Tayapongsak, che aveva utilizzato l'AFA (autologous fibrin adhesive) ottenuto grazie a un prelievo di sangue venoso poi centrifugato. Marx ha basato il suo studio sull'utilizzo di plasma ricco di piastrine (platelet-rich plasma, PRP) associato a innesti ossei e ha dimostrato come esso contenesse fattori di crescita come il PDGF (platelet-derived growth factor, fattore di crescita derivato dalle piastrine) e il TGF- β (transforming growth factor beta, fattore di crescita trasformante beta). Il PRP è composto per il 95% di piastrine, che sono una tipologia di cellule attive nel secernere fattori di crescita per l'iniziazione del processo di guarigione e allo stesso tempo secernono mediatori chimici responsabili dell'adesione, proliferazione e migrazione di svariate tipologie cellulari. Il PRP è quindi un concentrato di piastrine dalla cui distruzione si liberano i fattori di crescita chiamati Platelet Derived Growth Factors (PDGFs) che promuovono l'osteogenesi. Nel PRP a seguito della prima centrifugazione del sangue venoso a 5600 rpm, si ottengono 3 differenti strati all'interno della provetta. Nello strato superiore (40%) troviamo il PPP (platelet-poor plasma, plasma acellulare povero in piastrine), in quello in basso troviamo l'RBC (red blood cell), cioè la porzione rossa corpuscolata del sangue (55%) e in mezzo troviamo il buffy coat o PRP (5%) dove abbiamo la maggior concentrazione di piastrine. Si prelevano con una siringa sterile il PPP e PRP, ovvero i 2 strati superiori con una minima componente rossa (anche dei globuli rossi vengono prelevati), e si ripone il tutto in una fialetta. Si prosegue con una seconda centrifugazione più lunga e con una velocità di 2400 rpm per riuscire a concentrare le piastrine in basso e ottenere 3 strati meglio definiti in cui avremo in basso i pochi globuli rossi, in mezzo il PRP e in alto il PPP che

sarà l'80% del volume totale. Con un'altra siringa si elimina il PPP, lasciando solo abbastanza siero per poter porre il concentrato piastrinico in sospensione. Il PRP così ottenuto viene attivato unendolo con trombina bovina e cloruro di calcio attraverso un'apposita siringa miscelante. Tutto il processo richiede dai 20 ai 30 minuti e per la sua preparazione è necessario utilizzare uno specifico apparecchio da laboratorio d'analisi e la collaborazione di un ematologo (Marx et al. 1998, Jameson 2007). In letteratura sono presenti diversi studi condotti sull'utilizzo del PRP nell'ambito della rigenerazione ossea anche nel caso del rialzo del pavimento del seno mascellare (Donos et al. 2019). È stato visto come l'utilizzo di PRP associato ad innesti di osso autologo avesse un effetto positivo sulla densità ossea e la quantità di osso nel primo periodo della guarigione (Consolo et al. 2007, Kumar et al. 2015) e allo stesso tempo diminuiva la quantità di osso autologo necessario prelevato dalla cresta iliaca per il rialzo di seno mascellare (Bettega et al. 2009). Aggiungere il PRP all'osso autologo o ad altre tipologie organiche/inorganiche di sostituti ossei aumenta la qualità e la quantità dell'osso rigenerato (Inchingolo et al. 2012, Poeschl et al. 2012). Una serie di casi documenta l'utilizzo di PRP nel rialzo di seno prima o contemporaneamente all'inserimento implantare associato a osso autologo e HA bovina (Forni et al. 2013, Galindo-Moreno et al. 2007, Mazor et al. 2004), con osso autologo e fibrinogeno autologo sotto forma di crioprecipitati (Graziani et al. 2005), con blocchi di dente autogeno demineralizzato o polvere combinata di xenoinnesto e alloinnesto (Kim et al. 2016) e con DBBM (Deproteinized bovine bone matrix) (Rodriguez et al. 2003). Allo stesso tempo, in alcuni RCT e in alcuni studi split-mouth, le valutazioni istologiche, meccaniche e radiografiche non hanno rilevato un sostanziale effetto positivo nell'aggiunta di PRP all'osso autologo (Badr et al. 2010, Khairy et al. 2013, Raghoobar et al. 2005, Schaaf et al. 2008, Thor et al. 2005) o al DBBM (Cabbar et al. 2011, Torres et al. 2009), sebbene in uno studio di Yilmaz et al. del 2013, confrontando l'utilizzo di PRP/DBBM e

DBBM/membrane di collagene, si è osservato un maggior aumento dell'altezza verticale dell'osso e una formazione maggiore di osso maturo quando veniva usato il PRP. Altri studi hanno mostrato come l'utilizzo di PRP associato a fosfato tricalcico o DBBM ha portato risultati sovrapponibili clinicamente e radiograficamente, rispetto a quando non veniva utilizzato nel rialzo di seno mascellare (Kilic e Gungormus 2016, Taschieri et al. 2016, Wiltfang et al 2003).

Durante lo stesso periodo in cui è stato proposto il PRP da Marx, Anitua formula un'altra tipologia di PCs, il plasma ricco di fattori di crescita (plasma rich in growth factors, PRGF) e ottiene degli ottimi risultati sia nella rigenerazione ossea sia nella veloce riepitelizzazione post-chirurgica, grazie anche all'abbondante presenza di PDGF e TGF- β . Questa tipologia di concentrato piastrinico si ottiene sempre attraverso la centrifugazione di sangue venoso con anticoagulante a 160 g per 6 minuti (Anitua 1999). Si ottengono sempre 3 strati: in alto PPGF (plasma poor in growth factors), in basso la parte rossa del sangue RBC e in mezzo PRGF, il plasma ricco i fattori di crescita. Viene poi eliminata parte del PPGF e si preleva il plasma rimanente con PRGF e una piccola parte di globuli rossi e si trasferisce in una fialetta Eppendorf che contiene 50 μ L di cloruro di calcio al 10% (Anitua 1999, Masuki et al. 2016). L'utilizzo di PRGF nella rigenerazione del seno mascellare in uno studio split-mouth ha mostrato come il suo utilizzo con DBBM aumenti la neoformazione ossea (Anitua et al. 2012) e in una più recente RCT del 2015 di Del Fabbro et al. si è visto che il dolore post-operatorio, il gonfiore e l'ematoma sono ridotti.

Alla base dell'utilizzo di questi concentrati piastrinici vi è una maggior concentrazione di fattori di crescita autologhi e delle piastrine che, dopo essere stati prelevati dal plasma, possono essere utilizzati nel sito chirurgico per promuovere la guarigione locale. Un ulteriore vantaggio nell'utilizzo di queste nuove metodiche autologhe è costituito dal poter bypassare le possibili problematiche degli innesti allogenici e xenogenici di

una possibile trasmissione di malattie e di reazioni immunitarie. Questa prima generazione, PRP e PRGF, ha però dei limiti. I biomateriali vengono preparati aggiungendo anticoagulanti come la trombina bovina o il CaCl_2 durante il prelievo iniziale di sangue e necessitano di 2 processi di centrifugazione per aumentare la concentrazione di piastrine senza i leucociti. In più il tempo effettivo clinico di rilascio dei fattori di crescita è veramente limitato con il PRP. In una review del 2009 di Dohan Ehrenfest et al. sono stati classificati i concentrati piastrinici in 4 categorie a seconda della concentrazione di leucociti e di fibrina e in base alle procedure pratiche delle tecniche. Sia il PRP che il PDGF sono stati inseriti nella prima categoria sotto il nome di Leucocyte-poor o Pure platelet-rich plasma (P-PRP), soprattutto per la limitata presenza di leucociti. Tutte queste problematiche hanno fatto sì che si iniziasse a sviluppare una nuova generazione di PCs che fosse al 100% autologa.

Una seconda generazione di concentrati piastrinici ricchi di fibrina (platelet-rich fibrin, PRF) è stata sviluppata in Francia da Choukroun et al. nel 2001. La differenza principale è che il PRF non necessita di anticoagulanti né di trombina bovina, oltre al fatto che è più veloce e semplice da preparare e più economico. Una volta effettuato il prelievo, il sangue venoso viene centrifugato a 3000 rpm per 10 minuti e tutto questo deve avvenire nel minor tempo possibile vista l'assenza di anticoagulanti. Dalla centrifugazione anche in questo caso si ottengono 3 strati all'interno della fialetta: in alto si trova il plasma acellulare, in basso c'è l'RBC e in mezzo a questi 2 strati si ottiene un coagulo di fibrina. Le piastrine vengono massivamente intrappolate nella rete di fibrina. L'assenza di anticoagulanti implica l'attivazione in pochi minuti della maggior parte delle piastrine del campione di sangue in contatto con le pareti della fialetta e di conseguenza della cascata della coagulazione. Il successo della tecnica dipende dalla velocità del prelievo di sangue e del trasferimento alla centrifuga.

Il PRF grazie alla sua struttura fibrosa riesce sia a trattenere un numero maggiore di fattori di crescita e di citochine che a fare da scaffold per la migrazione cellulare. Nei tessuti si degrada più lentamente del PRP formando una solida matrice di fibrina simile al naturale coagulo sanguigno e ha la capacità di rilasciare gradualmente citochine e fattori di crescita per un tempo di 10 giorni. Nel 2006 in una serie di articoli Dohan ha mostrato come fossero migliori sia la guarigione che il post-operatorio grazie alle maggiori concentrazioni di fattori di crescita e citochine infiammatorie nel PRF (Dohan et al. 2006a, Dohan et al. 2006b, Dohan et al. 2006c). Choukroun ha proseguito questa serie di articoli studiando gli effetti clinici del PRF: il network di fibrina è l'elemento chiave che favorisce l'angiogenesi e le citochine intrappolate al suo interno sono rilasciate gradualmente e capaci di accelerare i processi cellulari (Choukroun et al. 2006a, Choukroun et al. 2006b). Bisogna tenere in considerazione che in letteratura quando si parla di PRF spesso si fa parecchia confusione. Secondo la classificazione di Dohan Ehrenfest et al. del 2009 con PRF si possono intendere 2 differenti categorie di concentrati piastrinici. Da una parte ci sono i PRF poveri in leucociti (Leucocyte-poor o Pure platelet-rich fibrin, P-PRF) e dall'altra i PRF ricchi in leucociti (Leucocyte platelet-rich fibrin, L-PRF). Quest'ultima categoria corrisponde alla tecnica di Choukroun et al. che nel suo articolo del 2001 viene semplicemente definita PRF. Nella review di Dohan Ehrenfest et al. si è visto che molti studi, che utilizzano protocolli dove i leucociti sono presenti nel concentrato piastrinico, definiscono L-PRF semplicemente PRF. Negli anni è stato proposto di utilizzare L-PRF solo come materiale da innesto per il rialzo di seno mascellare e il contemporaneo posizionamento degli impianti ottenendo come risultato una significativa quota di osso neoformato (Mazor et al. 2009, Simonpieri et al. 2011, Tajima et al. 2013). Alcuni studi supportano l'utilizzo del PRF con DBBM nella tecnica one-stage per il rialzo di seno (Inchingolo et al. 2010) e del PRF combinato con innesti allogenici sotto forma di granuli per la tecnica in 2 tempi del rialzo di

seno e aumento del volume a seguito di un'estrazione (Kransy et al. 2011). In uno studio di Choukroun et al. del 2006 è stato utilizzato il PRF associato a particelle di FDBA con il risultato di un'accelerazione del processo di guarigione: istologicamente si è visto che la guarigione può essere ridotta a 4 mesi. In uno studio seguente l'aggiunta di L-PRF a un alloinnesto non ha mostrato un miglioramento sostanziale nella guarigione e nelle complicazioni post-operatorie (Gurler e Delilbasi 2016).

In un RCT di Comert et al. del 2017 vengono messe a confronto diverse formulazioni: β -TCP da solo, P-PRP con β -TCP e PRF con β -TCP. L'analisi istomorfometrica a 6 mesi non ha mostrato nessun vantaggio nell'aggiunta di concentrati piastrinici. Sempre a conferma di ciò, altri studi sull'utilizzo di L-PRF con DBBM, L-PRF con nanocristalli di HA o L-PRF con innesto misto di DBBM e osso autologo hanno mostrato che gli emoconcentrati non producono benefici se messi a confronto con gli innesti da soli (Nizam et al. 2018, Zhang et al. 2012) o con innesti combinati con membrane barriera (Bolukbasi et al. 2015, Bosshard et al. 2014, Gassling et al. 2013), sebbene si sia visto che il PRF possa promuovere una maturazione precoce dell'osso (Tatullo et al. 2012). Recentemente una nuova formulazione di PRF (PRF preparato nel titanio, titanium-prepared PRF, T-PRF), dove il sangue viene centrifugato in provette di titanio, è stato utilizzato per il rialzo di seno mascellare (Olgun et al. 2018). Non sono state riscontrate differenze per quanto riguarda la stabilità implantare e la neoformazione ossea rispetto ai casi in cui sono stati utilizzati solo alloinnesti, ma la quantità di volume osseo radiografico e la densità sono migliori nei casi in cui il T-PRF non è stato utilizzato.

Nel 2014, diminuendo la velocità di centrifugazione a 1300 rpm (200 g) per 8 minuti (Masuki et al. 2016) oppure 1500 rpm per 14 minuti (Ghanaati et al. 2014), venne formulata sempre da Choukroun una nuova tipologia di PCs con una maggior concentrazione di leucociti, ma un coagulo di fibrina più debole: l'A-PRF (advanced platelet-rich fibrin). Si è visto che

diminuendo ancora di più la velocità si ottenevano maggiori concentrazioni di fattori di crescita rispetto al PRF. Riducendo la velocità a 700 rpm per 3 minuti si può ottenere l'I-PRF (injected platelet-rich fibrin), definito così perché può essere sia iniettato direttamente nei difetti oppure combinato a biomateriali come il PRP.

A-PRF e I-PRF sono stati inseriti nella terza generazione di concentrati piastrinici assieme al CGF (concentrated growth factors, fattori di crescita concentrati) che per la prima volta era stato descritto da Sacco nel 2006 (Corigliano et al. 2010).

2.2. CGF

Il Concentrated Growth Factor o CGF è stato introdotto per essere un'alternativa a tutti gli altri concentrati piastrinici studiati e utilizzati ampiamente nelle ultime decadi. Ha la caratteristica di essere preparato attraverso la centrifugazione a velocità alternate. Questo permette di poter isolare una maggior e più densa matrice di fibrina ricca di fattori di crescita. All'atto pratico permette l'utilizzo di tutte le sue parti, assolute o unite che possono essere combinate con altri biomateriali o osso autologo o eterologo.

Secondo il protocollo introdotto da Sacco (Corigliano et al. 2010), il sangue venoso viene centrifugato (Medifuge MF200, Sifradent srl, Forlì, Italy) senza l'aggiunta di anticoagulanti a velocità differenti con una sequenza ben precisa.

Per un totale di circa 13 minuti di centrifugazione che portano alla creazione di 3 strati:

1. In alto troviamo il siero o PPP (platelet poor plasma)

Il siero è la parte più leggera e liquida del sangue. Non contiene né fibrinogeno né fattori della coagulazione e può essere utilizzato come liquido per amalgamare gli innesti.

È composto per il 92% di H₂O e la restante parte comprende proteine, nutrienti, CO₂, enzimi ormoni, sali minerali.

Viene separato e poi conservato per poterlo utilizzare per lavare la cavità e come liquido coprente e protettivo per le parti rigenerate.

2. In mezzo è presente lo strato definito CGF

In questo strato troviamo un liquido contenente fattori di crescita, globuli bianchi e cellule staminali che devono essere stimolate a differenziarsi in tipi cellulari più specializzati con un gel ricco di fibrina (buffy coat). Questo gel si forma a seguito della polimerizzazione del fibrinogeno e grazie a questo si realizza il blocco di fibrina composto da reti polimeriche a fibre intrecciate che crescono tridimensionalmente in tutte le direzioni fino alla fine della reazione. Durante la polimerizzazione vengono catturate nel blocco di gel le molte componenti che poi ne determinano l'efficacia: le citochine avranno un effetto riparativo, antiinfiammatorio e antidolorifico durante la riparazione e le piastrine avranno il compito di trasmissione dei segnali e liberazione dei fattori di crescita come PDGF, TGF- β e IGF.

Viene prelevato con una siringa e posto nell'apposito contenitore oppure miscelato con osso autologo per ottenere un innesto attivato estremamente performante.

Questo strato può avere diversi utilizzi grazie alla sua grande lavorabilità e l'elevata capacità di induzione rigenerativa e può essere utilizzato come riempitivo cavitario diretto, sostegno per membrane, come membrane autologhe oppure come particolato da miscelare ad altro materiale riempitivo.

3. In basso: la parte rossa del sangue RBC

La fase rossa comprende globuli rossi, bianchi, piastrine, fattori di crescita, ferro e calcio. È un gel di colore rosso-bruno che viene utilizzato solo o

miscelato con particolato di fibrina e/o con osso autologo o eterologo quando vi è necessità di innesti molto voluminosi.

Può essere preparato per essere utilizzato per la realizzazione di impasti da riempimento, per miscele di biomateriali o di osso autologo prelevato per osteotomia o in particolato da innesto miscelato a biomateriale e osso autologo vivo.

Il CGF ha la caratteristica di possedere un'elevata concentrazione di fattori di crescita in un coagulo di fibrina rigido a differenza dell'A-PRF, ma entrambi hanno la capacità di stimolare un continuo e costante rilascio dei fattori di crescita per un periodo di 14 giorni (Lei et al. 2019). Il potenziale di questo concentrato piastrinico sta nella matrice di fibrina che contiene piastrine, leucociti e fattori di crescita e allo stesso tempo crea un supporto per la migrazione di cellule come i fibroblasti e le cellule endoteliali che sono coinvolte nell'angiogenesi e nel rimodellamento dei tessuti (Gassling et al., 2009). La densità della matrice di fibrina e la sua composizione sono il parametro fondamentale di ogni concentrato piastrinico (Kawase et al. 2003).

Diversi studi hanno dimostrato gli alti livelli di concentrazione di fattori di crescita, come PDGF-BB, TGF- β , VEGF, FGF. (Masuki et al. 2016, Qiao et al. 2017). Negli ultimi anni, oltre a confrontare le concentrazioni dei fattori di crescita tra i differenti concentrati piastrinici, si è iniziato a valutare il CGF solo o combinato con diversi biomateriali e quale fosse quello migliore nelle concentrazioni di fattori di crescita e tempi di rilascio (Yu et al. 2018).

3. MATERIALI DA INNESTO

Negli anni i PCs sono stati utilizzati principalmente assieme ad altri innesti tra cui abbiamo l'osso autologo, gli alloinnesti, gli xenoinnesti e i sostituti ossei sintetici.

In letteratura quelli maggiormente descritti sono gli **innesti autologhi**, cioè quelli in cui l'osso utilizzato è stato prelevato dallo stesso paziente su cui poi è stato posizionato. L'osso autologo viene considerato come gold standard per le sue proprietà osteogeniche, osteoinduttive e osteoconduttive. Ha la caratteristica di venire riassorbito per degradazione attraverso l'attività fagocitaria dei macrofagi e degli osteoclasti e poi sostituito da osso neoformato. Si possono trovare diverse tipologie di innesto autologo: innesti di spongiosa, innesti di corticale, innesti cortico-spongiosi o innesti particolati o bone chips. Possono essere prelevati da diverse sedi: cresta iliaca, ramo della mandibola, teca cranica con una maggior morbilità per il paziente, dovuta alla zona del prelievo.

Altri biomateriali spesso utilizzati in combinazione con i concentrati piastrinici sono gli **xenoinnesti (o innesti eterologhi)**. Questi materiali derivano da una specie diversa da quella del ricevente (bovino, equino o suino) e richiedono una sistematica distruzione delle proteine e di tutti i componenti che potrebbero comportare rischi di trasmissione di malattie o di reazioni immunitarie. Favoriscono la guarigione grazie alla loro osteoconduttività e spesso vengono utilizzati in associazione a materiali osteoinduttivi come l'osso autologo. Rientrano in questa categoria sia le membrane in collagene di origine suina (Bio-Gide® - Geistlich, Wolhusen/Switzerland) sia le matrici di osso bovino deproteinizzato DBBM (natural deproteinized bone mineral Bio-Oss® - Geistlich, Wolhusen/Switzerland) che vengono ricavate dall'osso bovino trattato attraverso un processo chimico che rimuove tutte le componenti organiche e patogene. Il DBBM è stato frequentemente utilizzato per rialzi di seno

mascellare e aumento dello spessore della cresta ed è uno tra sostituti ossei meglio documentati (Hallman & Thor 2008; Nkenke & Stelzle 2009). Le particelle minerali dell'osso vengono completamente incapsulate durante la nuova formazione ossea (Hockers et al. 1999) e ha la caratteristica di essere riassorbito lentamente (Skoglund et al. 1997; Schlegel & Donath 1998; Hallman & Thor 2008; Mordenfeld et al. 2010). Inoltre, il DBBM ha eccellenti proprietà osteoconduttive e permette la rivascularizzazione (Galindo Moreno et al. 2010), questo grazie al fatto che dopo essere stato trattato, rimane dell'idrossiapatite molto simile a quella dell'osso umano. Essa è costituita da cristalli di apatite organizzati in reticoli con micro e macropori che promuovono la stabilità del coagulo e l'apposizione di osso neoformato. Sul mercato si può trovare sottoforma di blocchi cilindrici o granuli di spongiosa e di corticale, formati da aggregati di sottili lamelle.

Gli **innesti allogenici** sono quelli che derivano da un individuo diverso del ricevente ma della stessa specie. L'osso viene prelevato da cadaveri entro le 24 ore dal decesso o proviene da teste di femore asportate durante interventi di protesi all'anca. Questi prelievi ossei vengono sottoposti a un trattamento atto a scongiurare la possibilità di trasmissione di batteri, virus, prioni e cellule tumorali dal donatore all'organismo ospite. Esistono diverse tipologie in base a come l'osso viene trattato e conservato: FBA (frozen bone allograft), che sarebbe osso congelato trattato con perossido di idrogeno; FDBA (freeze-dried bone allograft), osso congelato liofilizzato trattato con perossido di idrogeno, sottoposto a delipidazione con etanolo e sterilizzato con ossido di etilene e raggi gamma; DFDBA (demineralized freeze-dried bone allograft), osso demineralizzato congelato liofilizzato trattato anche con acido cloridrico.

L'ultima categoria è quella dei **sostituti ossei sintetici (o innesti alloplastici)**. Hanno la caratteristica di essere materiali sostitutivi dell'osso di origine sintetica o inorganica e hanno capacità osteoconduttive e di mantenere legami stabili nel tempo con l'osso neoformato. Tra questi innesti

possiamo trovare differenti tipologie. I biovetri hanno la caratteristica di creare legami chimici con l'osso grazie al fatto che le particelle diventano adesive quando sono a contatto con il sangue. Il solfato di calcio viene prodotto sottoponendo il gesso naturale ad un processo di calcinazione e ha la caratteristica di riassorbirsi velocemente. I prodotti a base di polimeri sono copolimeri di acido polilattico (PLA), che degrada più velocemente, o acido poliglicolico (PLG), che è più idrofobo e permane più a lungo. Sono degradati per idrolisi e il processo termina con la produzione di H_2O e CO_2 . È la tipologia più riassorbibile tra i sostituti ossei sintetici, è facile da maneggiare, ha una buona biocompatibilità e ha soddisfacenti proprietà biomeccaniche. Il fosfato di calcio lo possiamo trovare sotto forma di fosfato tricalcico o idrossiapatite ed entrambi possiedono proprietà osteoconduttive. Il fosfato tricalcico o TCP è una ceramica sintetica costituita da calcio e fosforo e possiede una struttura microporosa che è in grado di fornire un valido legame chimico con l'osso. Esistono 2 forme: α , in cui il processo di riassorbimento è più lento (anni) e β , che viene riassorbita più velocemente e sostituita da osso neoformato in 8-12 mesi. L'idrossiapatite o HA è la componente inorganica dell'osso e ne costituisce l'impalcatura. Rappresenta il materiale più compatibile tra i sostituti ossei sintetici e possiede una struttura porosa, è molto solido e il riassorbimento è molto lento.

4. FATTORI BIOATTIVI

La formazione ossea è un complesso processo che coinvolge un ampio numero di ormoni, citochine e fattori di crescita. I fattori bioattivi sono mediatori naturali della riparazione cellulare capaci di promuovere una risposta da un tessuto vivente, un organismo o una cellula, come la differenziazione degli osteoblasti, l'angiogenesi, la mitosi della matrice o la formazione dell'idrossiapatite (Ohba et al. 2012). Tra questi fattori bioattivi troviamo i fattori di crescita, le amelogenine e i concentrati piastrinici.

Le amelogenine (enamel matrix derivatives, EMD) sono proteine idrofobiche che rappresentano la maggior parte della componente organica nella matrice dello smalto dei denti e giocano un importante ruolo nella mineralizzazione dello smalto (Fincham e Simmer 2007). L'efficacia di queste proteine da una parte è stata ampiamente studiata nella formazione di tessuto parodontale, dall'altra è stata messa in discussione nei casi in cui sono presenti difetti ossei di dimensioni critiche o nella rigenerazione de novo dell'osso (Donos 2005, Murai 2005). Mettendola a confronto con altre tecniche di rigenerazione, innesti ossei o barriere mantenitrici di spazio, è stato visto che il loro utilizzo non porta a un significativo vantaggio nella rigenerazione ossea (Donos et al. 2018).

I fattori di crescita rappresentano una grande famiglia di proteine solubili che modulano la risposta cellulare: l'attacco e l'adesione cellulare, la sopravvivenza cellulare, la proliferazione, la chemiotassi e la differenziazione. Possono essere definiti come agenti mitogeni (stimolano la proliferazione cellulare) oppure come agenti chemiotattici (stimolano il reclutamento cellulare) (Nevins et al. 2003).

Alcuni fattori di crescita hanno specifiche funzioni durante la guarigione e il loro equilibrio è un requisito fondamentale per una riparazione ottimale dei tessuti. La guarigione è caratterizzata da diversi stadi (fase emostatica, fase flogistica infiammatoria, fase proliferativa e fase della

rimodellazione). Durante queste fasi, il comportamento cellulare è controllato da diversi fattori tra cui le interazioni tra la matrice e le cellule e i ligandi solubili come citochine e fattori di crescita. Al giorno d'oggi ancora la sequenza precisa di attivazione cellulare da parte dei fattori di crescita non è ancora stata descritta. In generale, tutti i fattori di crescita sono delle piccole proteine che attivano una risposta cellulare dopo essersi legati a un recettore cellulare.

4.1. TGF- β

Il Transforming Growth Factor beta o Fattore di crescita trasformante beta appartiene a una superfamiglia di molecole deputate al controllo di molteplici aspetti delle funzioni cellulari. Viene prodotto da piastrine, cellule epiteliali, macrofagi, fibroblasti e miofibroblasti. Stimola la proliferazione cellulare delle cellule del legamento parodontale (Sant'Ana et. al 2007) e ha un potente effetto chemiotattico stimolante dei fibroblasti nella gengiva e nel legamento parodontale. (Nishimura e Terranova 1996, Postlethwaite et al. 1987). Il suo effetto è visibile anche a livello della differenziazione dei miofibroblasti e della produzione di molecole della matrice extracellulare (Smith et al. 2006). Alcuni membri di questa superfamiglia hanno un ruolo decisivo nella differenziazione delle cellule staminali mesenchimali (MSCs) in osteoblasti. Il TGF- β è una delle citochine più abbondanti nella matrice ossea e possiede un ruolo duale nella formazione ossea da parte degli osteoblasti: da una parte stimola una iniziale differenziazione degli osteoblasti promuovendo il reclutamento e la proliferazione dei precursori degli osteoblasti e l'espressione di proteine della matrice; dall'altra agisce sul rimodellamento osseo inibendo la differenziazione e la mineralizzazione degli osteoblasti (Maeda et al. 2004).

4.2. PDGF

Il Platelet-derived Growth Factors o Fattore di crescita derivato dalle piastrine corrisponde a una proteina naturale dimerica che può avere diverse isoforme AA, BB, CC, DD oppure AB (eterodimero). Il PDGF si trova in abbondanza nella matrice ossea ed è implicato sia in processi biologici che patologici, tra cui anche lo sviluppo, il cancro e la guarigione di una ferita. Può essere secreto da piastrine a seguito della loro degranulazione, dall'epitelio, dai macrofagi e dalle cellule endoteliali (Pierce et al. 1991, Javed et al. 2011). Il PDGF-BB stimola i processi iniziali della guarigione della ferita e promuove la chemiotassi dei fibroblasti gengivali e delle cellule legamento parodontale. È un potente attivatore delle cellule di origine mesenchimale e potenzia la differenziazione degli osteoblasti. Ha capacità sia chemiotattiche che mitogene nei confronti degli osteoblasti e ne stimola la sintesi di collagene di tipo I, che è la componente primaria extracellulare dell'osso. I recettori della membrana cellulare per il PDGF aumentano durante le fasi della guarigione (Nevins et al. 2003).

4.3. BMP

Le Bone Morphogenetic Proteins o Proteine morfogenetiche dell'osso sono un'ampia sottofamiglia del TGF- β che conta più di 30 diverse molecole. Le BMP sono coinvolte nei processi di formazione della cartilagine e dell'osso durante l'embriogenesi e nello sviluppo. Hanno le capacità di stimolare la differenziazione delle cellule staminali mesenchimali in osteoblasti, ed è per questo che hanno un ruolo chiave nella guarigione ossea (Tsialogiannis et al. 2009). Sono coinvolte nella morfogenesi e nello sviluppo di numerosi altri tessuti, tra cui anche quelli del dente. Vengono divise in base alle loro caratteristiche. BMP-2, -7, -9 e -14 possono indurre la differenziazione delle MSC in osteoblasti; BMP-3 e -4 è stato dimostrato che

promuovono la formazione dell'osso e la riparazione delle fratture; BMP-5, -6 e -8 sono coinvolte direttamente nella condrogenesi (Cheng et al. 2003, Chen et al. 2004) e BMP-1 ha un effetto specifico nella cementogenesi (Smith et al. 2015).

In una recente review narrativa sui fattori bioattivi è stato visto che la BPM-2 possiede i migliori risultati nella rigenerazione ossea mettendola a confronto con i PCs, con gli altri fattori di crescita e con le amelogenine (Donos et al. 2018).

4.4. FGF

Il Fibroblast Growth Factors o Fattore di crescita dei fibroblasti appartiene a una grande famiglia di polipeptidi che comprende più di 20 membri con struttura simile (Ornitz & Itoh 2001). FGF-2 promuove la proliferazione delle cellule endoteliali e la loro organizzazione fisica creando uno spazio adatto all'inizio dell'angiogenesi e alla crescita dei nuovi vasi sanguigni (Cao et al. 2003). Possiede capacità mitogene nei confronti delle cellule mesenchimali (Kao et al. 2009). In letteratura si trovano alcuni risultati discordanti sull'effetto del FGF-2, ma si è visto che questo potrebbe essere dovuto dalla modalità di utilizzo e più precisamente dalla dose e dal tempo di esposizione (Quarto et al. 2008).

4.5. VEGF

Il Vascular Endotelial Growth Factor o Fattore di crescita dell'endotelio vascolare è un potente promotore di crescita vascolare. La semplice presenza di questa citochina è sufficiente a stimolare l'angiogenesi e sappiamo che l'osso è un tessuto altamente vascolarizzato che si sostiene attraverso i vasi sanguigni che trasportano ossigeno, nutrienti e anche cellule staminali e fattori di crescita circolanti.

Il VEGF è prodotto dai macrofagi e cellule T, ma soprattutto dalle piastrine. Questa famiglia comprende 6 diverse proteine: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E e il fattore di crescita della placenta (Hsiong & Mooney 2006). Il VEGF endogeno ha un ruolo chiave nella riparazione dell'osso. È presente sia nel callo osseo che durante lo sviluppo dell'osso. Sappiamo che il VEGF è essenziale per la normale angiogenesi e per creare un'adeguata architettura del callo osseo e la sua mineralizzazione a seguito di una frattura. Sebbene le cellule endoteliali siano l'obiettivo primario del VEGF, questa proteina modula anche il reclutamento, la sopravvivenza e l'attività degli osteoblasti e degli osteoclasti (Carano & Filvaroff 2003). Gli osteoblasti sono in grado di rispondere all'attivazione da parte del VEGF producendo ulteriormente VEGF. Si instaura così un circolo per cui il VEGF agisce direttamente sugli osteoblasti promuovendone la migrazione, la proliferazione e la differenziazione in maniera autocrina (Mayr-Wohlfart et al. 2002).

4.6. IGF

L'Insulin-Like Growth Factors o fattori di crescita insulino-simili sono una famiglia di fattori di crescita, recettori e proteine coinvolta nei processi di sviluppo e differenziazione in numerosi tessuti, ma anche in svariati processi patologici. La famiglia include 3 ligandi (insulina, IGF-I e IGF-II), 3 recettori sulla membrana cellulare (dell'insulina, IGF-I e IGF-II) e almeno 6 proteine IGFBPs (IGF-binding proteins) che si legano all'IGF circolante e ne modulano l'azione (Werner & Katz 2004). L'IGF agisce nella promozione della proliferazione cellulare e nell'inibizione della morte cellulare (apoptosi) (Lee & Shin 2007) ed è coinvolto negli sviluppi del dente e del legamento parodontale (Werner & Katz 2004).

Si trovano a livello del periostio e nel callo fibroso delle fratture. Sono prodotti dalle cellule ossee, ma possono essere incorporati nella matrice

calcificata e rilasciati durante il riassorbimento. Esercitano i loro effetti principalmente sui precursori degli osteoblasti, stimolandone la differenziazione e la proliferazione, ma anche sugli osteoblasti stessi che sono stimolati alla replicazione. Promuovono inoltre l'espressione di collagene tipo I e la sintesi della matrice ossea, contribuendo ad accelerare i processi di guarigione (Corigliano et al. 2010).

5. RIALZO DI SENO MASCELLARE

Il rialzo del pavimento del seno mascellare è stato descritto per la prima volta da Tatum nel 1976 e successivamente pubblicato da Boyne e James nel 1980.

Il seno mascellare è una cavità pneumatica di forma piramidale ed è il più grande dei 4 seni paranasali. Ha la caratteristica di essere rivestito dalla membrana di Schneider che è composta da un epitelio respiratorio (epitelio colonnare ciliato pseudostratificato) e da periostio verso le pareti ossee del seno. Il seno mascellare mantiene le sue dimensioni complessive fino a che i denti posteriori sono presenti e in funzione. Nel mascellare posteriore a livello del seno a seguito della perdita degli elementi dentari si verificano riassorbimento della cresta ossea e pneumatizzazione. Entrambi questi processi possono determinare una riduzione quantitativa e qualitativa della quota ossea e questo può portare ad avere una dimensione inadeguata dell'osso per il posizionamento di impianti e una successiva riabilitazione protesica (Forabosco et al. 2018).

I pattern di come si modifica la cresta ossea e di come avviene il riassorbimento sono stati descritti da Cawood & Howell nel 1988. Hanno creato una classificazione di 6 diversi stadi riguardante i mascellari edentuli e hanno descritto come l'osso basale, sia della mandibola che della mascella, rimanga sostanzialmente stabile e che i cambiamenti di forma si osservano principalmente lungo gli assi orizzontale e verticale dell'osso alveolare. In generale, il cambiamento della forma dell'osso alveolare segue un pattern predicibile e sono state definite 6 diverse classi (vedere Fig. 1):

- classe I: si intende una situazione in cui la dentatura è ancora presente;
- classe II: momento immediatamente successivo all'estrazione;
- classe III: cresta alveolare ampia e arrotondata, che ancora mantiene un'adeguata altezza e spessore;

- classe IV: cresta alveolare a lama di coltello, con altezza sufficiente ma spessore insufficiente;
- classe V: la cresta alveolare è appiattita, con altezza e spessore insufficienti;
- classe VI: è presente anche una perdita d'osso basale.

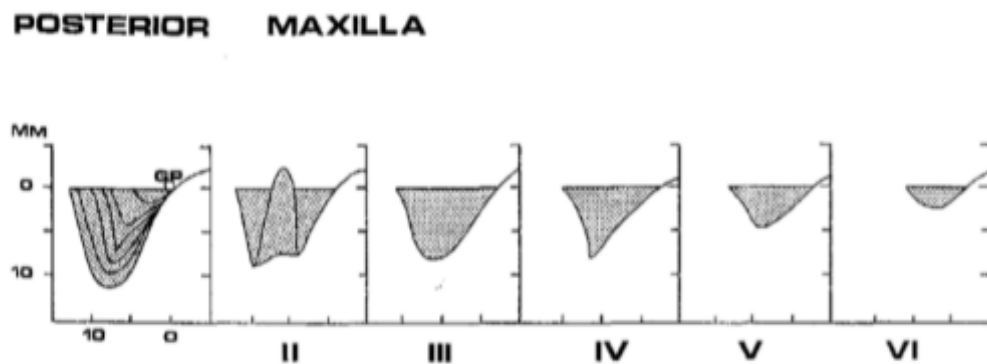


Fig.1 Classificazione Cawood & Howell

Le possibilità di trattamento nel mascellare superiore nella porzione posteriore possono essere diverse in base alle condizioni di partenza del paziente: possono essere attuate tecniche di rialzo di seno con un approccio transalveolare (tecnica osteotomica) o con tecnica laterale; si può procedere con l'inserimento di impianti corti oppure di impianti inclinati distalmente o mesialmente. Il sollevamento del pavimento del seno mascellare è indicato in quei pazienti in cui l'utilizzo di impianti corti o inclinati non è possibile a causa delle condizioni anatomiche del paziente. Il rialzo di seno può essere messo in atto in un'unica chirurgia, in cui l'inserimento implantare sarà contestuale al rialzo del pavimento sinusale (one-stage), oppure in 2 diversi momenti chirurgici, prima il rialzo del seno mascellare e poi in un'altra fase l'inserimento degli impianti.

Negli anni sono stati utilizzati diversi materiali da innesto per il rialzo del seno mascellare e tutti hanno dato dei risultati soddisfacenti. Gli innesti di

osso autologo ottenuti dal paziente stesso sono una metodica di successo nella rigenerazione ossea, ma allo stesso tempo aumentano la morbilità del paziente a causa della necessità di un precedente intervento nella zona donatrice. Diversi sostituti ossei sono stati utilizzati come alternativa o combinati con l'osso autologo come l'osso demineralizzato congelato (demineralized freeze-dried bone, DFDBA), l'idrossiapatite (HA), il β fosfato tricalcico e il DBBM (Handschel et al. 2009).

La tecnica laterale di rialzo del pavimento del seno mascellare prevede l'apertura di una finestra laterale a livello del seno a seguito di uno studio radiografico con CBCT per valutare l'atrofia mascellare. A seguito dell'anestesia si effettua un'incisione in cresta o leggermente palatale seguita da un'incisione verticale per poter elevare un lembo a tutto spessore per scoprire la parete ossea del seno. La finestra laterale viene creata grazie all'aiuto di uno strumento piezoelettrico (Piezosurgery® Mectron, Carasco, Italy) e viene erosa la corticale ossea a livello del pavimento del seno mascellare. Tecniche differenti prevedono diversi approcci: se la corticale è fina si può pensare di lasciare un'isola di osso adesa alla membrana di Schneider, che poi verrà elevata orizzontalmente; se la parete ossea laterale è abbastanza spessa e convessa, verrà eliminata completamente con un'osteoplastica lasciando una finestra aperta lateralmente. Si ottiene così una finestra laterale di 5-6 mm di diametro e i chip ossei ottenuti vengono conservati per poter essere poi utilizzati in combinazione con l'innesto. La membrana viene elevata attraverso l'utilizzo di strumenti manuali e piezoelettrici e alla fine viene mobilizzata e ispezionata per controllarne l'integrità. L'estensione dell'elevazione della membrana è il minimo necessario e si decide in base alla lunghezza degli impianti che verranno poi inseriti. Si posiziona l'innesto tra la membrana e il pavimento del seno mascellare. Gli impianti vengono poi posizionati avendo cura di proteggere la membrana durante la sequenza delle frese (Wallace et al. 2012, Merli et al. 2016, Testori et. Al 2019).

6. MATERIALI E METODI

6.1. PROGETTAZIONE E IMPOSTAZIONE DELLO STUDIO

Lo studio è stato condotto in una clinica privata specializzata in chirurgia orale avanzata e riabilitazioni implantari a Rimini (Italia) tra Gennaio 2017 e Aprile 2020 con un follow-up di 12 mesi dopo il rialzo del seno mascellare e il simultaneo posizionamento degli impianti.

6.2. PARTECIPANTI

Sono stati reclutati pazienti con necessità di un trattamento di rialzo del pavimento del seno per una riabilitazione implantare. I candidati sono stati scelti anche sulla base di analisi ematochimiche recenti (massimo 3 mesi antecedenti) e informati sull'intervento.

I partecipanti sono adulti di 18 o più anni, con un edentulia parziale e una classe V di atrofia del mascellare superiore secondo la classificazione di Cawood e Howell del 1988 caratterizzata da uno spessore osseo residuo di 1-3 mm, in cui è consigliabile un aumento del pavimento del seno per favorire una riabilitazione protesica con uno o più impianti.

I partecipanti sono stati selezionati escludendo coloro i quali presentassero:

- controindicazioni sistemiche al posizionamento implantare,
- precedente storia di terapia irradiante nell'area del testa-collo,
- un'igiene orale scarsa con un indice di placca totale del cavo orale (full mouth plaque score, FMPS) e un indice di sanguinamento totale (full-mouth bleeding score, FMBS) minori di $\geq 20\%$ e scarsa motivazione,
- diabete non controllato (livelli di glicemia sopra il normale limite di 130 mg/dL),

- problematiche metaboliche e rimodellamento osseo dovuto all'assunzione di alcuni farmaci,
- gravidanza in corso e durante l'allattamento,
- utilizzo di sostanze stupefacenti,
- abitudine a fumare più di 10 sigarette al giorno,
- ampiezza dell'osso marginale inadeguata,
- assenza di cisti e sinusiti attive,
- anemia severa,
- trombocitopenia e problemi della coagulazione,
- terapia con agenti antiaggreganti o anticoagulanti,
- rifiuto di firmare il consenso informato.

Prima dell'intervento sono state registrate le variabili dell'età, del genere e l'abitudine al fumo. Basandosi sulle radiografie periapicali è stata misurata la distanza tra la cresta ossea e il seno mascellare in corrispondenza della zona di inserzione implantare.

Lo studio è stato condotto in accordo con i principi etici che derivano dalla dichiarazione di Helsinki. L'operatore principale ha più di 30 anni di esperienza nella chirurgia implantare e nelle riabilitazioni protesiche implantari.

6.3. PREPARAZIONE CGF

Il CGF è stato preparato come descritto nel 2015 da Bozkurt Dogan et al. Sono stati prelevati 20-60 ml di sangue venoso prima dell'intervento attraverso delle provette da 10 ml di plastica ricoperte di vetro senza l'aggiunta di anticoagulanti. Queste provette sono state immediatamente centrifugate con l'utilizzo di una centrifuga adibita alla preparazione del CGF (Medifuge, Silfradent srl, S. Sofia, Italy) seguendo un programma già prestabilito di circa 14 minuti:

- 30'' di accelerazione

- 2' a 2700 rpm
- 4' a 2400 rpm
- 4' a 2700 rpm
- 3' a 3000 rpm
- 36'' di decelerazione e stop

Alla fine della centrifugazione si creano 3 diversi strati:

1. lo strato inferiore: la parte rossa del sangue (red blood cell, RBC);
2. lo strato in mezzo: fattori di crescita e cellule staminali (growth factor and stem cell layer, CGF);
3. lo strato superiore: il siero (platelet poor plasma, PPP).

Lo strato centrale del CGF viene prelevato dalla provetta e separato dal RBC attraverso l'utilizzo di forbici sterili. Il CGF viene poi inserito in uno specifico box e sottoposto a pressione per produrre membrane di 1 mm di spessore costante.

6.4. INTERVENTO

Tutte le procedure chirurgiche sono state effettuate da un unico chirurgo a seguito di una valutazione della zona atrofizzata con CBCT (cone beam computered tomography) per valutare tridimensionalmente la morfologia dei tessuti duri.

I pazienti sono stati sottoposti a sedazione cosciente con monitoraggio continuo dei parametri vitali durante l'intera procedura chirurgica. Hanno ricevuto lo stesso protocollo farmacologico: somministrazione di Midazolam 0.5-1 mg e Atropina 0.5 mg, Ceftriaxone 1 g, Tramadol 100 mg, Ketorolac 30 mg e Betametasone Sodio Fosfato 4 mg.

A seguito dell'anestesia locale (Articaina con Epinefrina 1:100.000), è stata effettuata un'incisione creale seguita da una o due incisioni distale e una mesiale. Un lembo a tutto spessore è stato sollevato per esporre la parete ossea su cui è stata effettuata l'apertura della finestra laterale con l'utilizzo

di strumenti piezoelettrici (Piezosurgery® Mectron, Carasco, Italy). La finestra laterale ottenuta è rappresentata da un'area circolare di 5-6 mm di diametro. L'antrostromia deve essere effettuata considerando anche la presenza di setti di Underwood che possono essere bypassati attraverso l'erosione degli stessi. Inoltre, se la membrana dovesse perforarsi, ampliare i margini della finestra attraverso l'erosione può facilitare la gestione della ferita. La parete laterale è stata erosa con uno specifico inserto (OP3, Mectron) e la membrana di Schneider sollevata utilizzando entrambe le tecniche sia manuale che attraverso l'utilizzo di inserti piezoelettrici: Stoma® (elevatore della membrana del seno creato dal chirurgo) e un inserto ultrasonico per la piezochirurgia (Sinus lift kit, Mectron) (Merli, et al., 2016). Tutto questo è stato effettuato per creare uno scompartimento per il materiale da innesto. La membrana sinusale viene mobilizzata e ispezionata per avere la sicurezza della sua integrità. L'estensione dell'elevazione della membrana del seno è minima e si basa sulla lunghezza già prestabilita durante il piano di trattamento degli impianti che poi si posizioneranno. L'approccio con tecnica minimamente invasiva previene l'utilizzo di un'ampia quantità di materiale da innesto e riesce a rispettare la fisiologica funzione del seno mascellare. Durante la strumentazione si possono ottenere dei chip ossei che vengono conservati per essere poi utilizzati in aggiunta come materiale da innesto. Una volta creato lo spazio per il futuro innesto, delle membrane in CGF (2-3) sono state inserite verso la parete mediale del seno e al di sotto della membrana del seno per dare protezione durante l'inserimento degli impianti (gruppo test) oppure è stato inserito del DBBM nello spazio creato (gruppo controllo) e poi si è proceduto con il posizionamento degli impianti. Protegendo la membrana, il sito implantare viene preparato utilizzando il normale protocollo di posizionamento implantare. La finestra laterale è stata coperta con due strati di membrane in CGF nei casi test, mentre nel gruppo controllo è stata applicata una membrana in collagene e fissata con miniviti.

Gli impianti utilizzati sono Nobel Parallel CC (Nobel Biocare® AG, Kloten, Switzerland) o Thommen Element (Thommen Medical® AG, Grenchen, Switzerland). La scelta della tipologia dell'impianto, il diametro e la lunghezza è stata fatta direttamente dal chirurgo.

La tecnica di sutura prevede il coinvolgimento di più strati con un materassoio orizzontale (5-0) e punti staccati (6-0).

Il protocollo post-operatorio prevede l'utilizzo di ghiaccio nelle prime due-tre ore dopo la chirurgia e la somministrazione di antibiotici e analgesici: Amoxicillina-Acido Clavulanico 1 g due volte al giorno per 6 giorni e Ibuprofene 600 mg due volte al giorno per 3-4 giorni. I pazienti vengono istruiti all'utilizzo di collutorio con Clorexidina (0.12%) due volte al giorno dal terzo giorno dopo l'operazione e all'applicazione di un gel di Clorexidina sull'area della ferita due volte al giorno per 15 giorni.

L'abutment viene posizionato dopo 8 mesi dalla chirurgia e il provvisorio a 9 mesi. Le connessioni delle protesi fisse utilizzate sono tutte avvitate.

6.5. OUTCOMES

Gli outcomes valutati nel presente studio sono stati:

1. Fallimento implantare: la presenza di una qualsiasi mobilità di un impianto individuale e/o qualsiasi situazione che imponesse la rimozione degli impianti;
2. Complicazioni biologiche o protesiche definite come inaspettate rispetto al normale risultato del trattamento: un esempio di complicazioni biologiche sono emorragie durante o dopo il posizionamento degli impianti, perforazione della membrana del seno, fistole, sinusiti, perdita sensoriale e peri-implantiti. Complicazioni protesiche includono la frattura dell'impianto;

3. Valutazione soggettiva della soddisfazione del paziente attraverso una scala visiva (visual analogue scale, VAS). Nei 10 cm della VAS, il limite minore corrispondeva a “non soddisfatto” e il limite maggiore a “molto soddisfatto”;
4. Cambiamenti del livello dell’osso marginale (marginal bone level, MBL), valutati attraverso radiografie intraorali digitali eseguite con tecnica del parallelismo al momento dell’inserimento implantare e durante la consegna della protesi definitiva;
5. Aumento dell’osso radiograficamente.

6.6. METODO STATISTICO

Le statistiche descrittive sono state eseguite usando la media e la deviazione standard per i dati quantitativi e la frequenza e la percentuale per i dati qualitativi. Il paziente era l'unità statistica.

Un paziente è stato considerato un fallimento se almeno un impianto ha fallito e il paziente è stato considerato con complicazioni se si è verificata almeno una complicazione.

Per il cambiamento del livello osseo marginale (marginal bone level, MBL) e per il cambiamento dell'altezza totale dell'osso (total bone height, TBH) dal baseline al follow-up di 6 mesi, è stata eseguita l'analisi del test di covarianza (ANCOVA) usando il valore al baseline come covariante.

Per la soddisfazione del paziente è stato utilizzato un t-test.

7. RISULTATI

Venti pazienti sono stati arruolati in questo studio clinico controllato: 10 pazienti (11 impianti) nel gruppo CGF (gruppo test) e 10 pazienti (14 impianti) nel gruppo DBBM (gruppo controllo).

I pazienti sono stati trattati da gennaio 2017 ad aprile 2019 ed è stata effettuata una radiografia al baseline (prima dell'intervento chirurgico) e 6 mesi dopo l'intervento chirurgico (alla consegna della protesi provvisoria).

Le principali caratteristiche del paziente al baseline sono mostrate nella Tabella 1. Non erano presenti apparenti differenze al baseline tra i due gruppi, tranne l'altezza dell'osso residuo prima dell'intervento (height of the residual bone, HRB) che era maggiore nel gruppo CGF.

Nessun impianto è fallito dopo 6 mesi dall'intervento in entrambi i gruppi e non ci sono state complicazioni. Tutte le protesi che erano state pianificate sono state consegnate e non vi è stata alcuna perdita delle protesi dovuta a fallimento implantare.

Le statistiche descrittive e inferenziali del livello osseo marginale (MBL) a 6 mesi, la variazione della MBL tra il baseline e il follow-up a 6 mesi, l'altezza totale dell'osso (TBH) a 6 mesi, le variazioni del TBH tra il baseline e il follow-up a 6 mesi e la VAS per soddisfazione sono mostrati nella Tabella 2.

Non vi è stata alcuna differenza statisticamente significativa nella variazione del livello osseo marginale (MBL) tra il gruppo CGF e DBBM (differenza di -0,3 a favore del gruppo CGF, IC del 95% da -0,8 a 0,2, $P=0,18$). Non vi è stata alcuna differenza statisticamente significativa nella variazione dell'altezza totale dell'osso (TBH) tra il gruppo CGF e DBBM (differenza di -0,2 a favore del gruppo DBBM, IC del 95% da -1,3 a 0,8, $P=0,61$). Non ci sono state differenze statisticamente significative nella soddisfazione (differenza di 0,2 a favore del gruppo CGF, IC del 95% da -0,2 a 0,6, $P=0,29$).

Tabella 1. Valori al baseline.

	DBBM	CGF
Numero	N=10	N=10
Età in anni (SD)	61.0 (8.6)	64.0 (8.4)
[Range]	[42;71]	[50;74]
Genere (donne)	5 (50%)	5 (50%)
Fumatori	2 (20%)	2 (20%)
Seni trattati (totale)	11	11
Impianti (totale)	14	11
Impianti Thommen (pazienti)	12 (8)	8 (8)
Impianti Nobel (pazienti)	2 (2)	2 (2)
Diametro impianti, mm (SD)	4.3 (0.4)	4.3 (0.4)
Lunghezza impianti, mm (SD)	7.6 (1.0)	7.9 (1.5)
HRB mm (SD)	2.3 (0.8)	3.0 (0.8)
MBL mm (SD)	0.04 (0.1)	0.2 (0.2)
TBH mm (SD)	9.4 (1.1)	9.7 (1.9)

Tabella 2. Valori a 6 mesi di follow-up.

	DBBM N=10	CGG N=10	Differenza	95% CI	P-value
MBL mm (SD)	0.7 (0.6)	0.5 (0.3)	-0.3	-0.8; 0.2	0.18
Variazione MBL mm (SD)	0.7 (0.6)	0.3 (0.2)	-0.3	-0.8; 0.2	0.18
TBH mm (SD)	8.9 (1.9)	9.0 (2.1)	-0.2	-1.3; 0.8	0.61
Variazione TBH mm (SD)	-0.5 (1.0)	-0.7 (1.1)	-0.2	-1.3; 0.8	0.61
VAS per la soddisfazione	9.7 (0.4)	9.9 (0.3)	0.2	-0.2; 0.6	0.29

8. DISCUSSIONE

L'obiettivo di questo studio era di confrontare nella procedura di rialzo del pavimento del seno mascellare i risultati tra l'utilizzo di DBBM e concentrati piastrinici (CGF). Nel presente studio sono stati valutati diversi outcomes come il fallimento implantare, eventuali complicazioni biologiche o protesiche inaspettate, la valutazione soggettiva della soddisfazione del paziente, i cambiamenti del livello dell'osso marginale (marginal bone level, MBL) e la variazione dell'osso a livello radiografico.

In generale dai risultati è emerso che per quanto riguarda sia la variazione del livello di osso marginale che dell'altezza dell'osso totale non ci sono state differenze statisticamente significative nell'utilizzo di una o dell'altra tecnica. Entrambe le tecniche hanno prodotto dei risultati positivi per quanto riguarda l'intervento chirurgico e il posizionamento e la stabilità della riabilitazione protesica implanto-supportata consegnata e in nessuno dei gruppi sono state presenti complicazioni.

Dai risultati quindi emerge che l'utilizzo di una o dell'altra tecnica può essere considerato equiparabile sotto il punto di vista dei risultati clinici. A questo punto dobbiamo considerare perché eventualmente sarebbe meglio utilizzare un innesto eterologo rispetto a un concentrato piastrinico. I concentrati piastrinici sappiamo essere degli innesti completamente autologhi con capacità bioattive. Essendo autologhi viene eliminato qualsiasi rischio di trasmissione crociata di malattie e sono al 100% compatibile con il ricevente. Reperire il materiale è semplice e rapido e può essere effettuato direttamente dal clinico senza l'obbligo di presenza di altri specialisti nell'ambulatorio. In più i concentrati piastrinici sono una valida alternativa economica nel momento in cui il nostro paziente ha limitate disponibilità finanziarie. In aggiunta hanno la caratteristica di avere un'ottima versatilità e poter essere utilizzati in diversi modi e scopi, come la gestione di

complicazioni intraoperatorie quali le perforazioni della membrana di Schneider.

I pazienti di entrambi i gruppi sono rimasti soddisfatti del trattamento con una minima differenza nella media dei voti della scala VAS a favore del gruppo test del CGF (non statisticamente significativa). Possiamo supporre che questa minima differenza possa essere data dalle proprietà e caratteristiche intrinseche del concentrato piastrinico che sappiamo avere la capacità di favorire la guarigione post-operatoria con minor dolore e discomfort da parte del paziente.

Un limite nella valutazione dei risultati potrebbe essere il ridotto numero del campione utilizzato in questo studio e allo stesso tempo un'altra limitazione potrebbe essere il fatto di aver utilizzato 2 diverse tipologie di impianti.

Sarà opportuno procedere con il follow-up anche dopo i 6 mesi per valutare come a più lungo termine l'utilizzo di una o dell'altra tecnica possa influire sulla stabilità e longevità della riabilitazione protesica implanto-supportata.

9. CONCLUSIONI

L'utilizzo degli emoconcentrati piastrinici (CGF) come unico materiale da innesto nel rialzo del seno mascellare con approccio laterale e contestuale inserzione implantare si è rivelato una valida alternativa, pratica, sicura ed economica per la formazione di nuovo osso anche nelle condizioni anatomiche sfavorevoli di ridotta altezza ossea residua.

10.BIBLIOGRAFIA

Al-Dajani M. Incidence, Risk Factors, and Complications of Schneiderian Membrane Perforation in Sinus Lift Surgery: A Meta-Analysis. *Implant Dent.* 2016; 25:409-415.

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; 14:529-535.

Anitua E, Prado R, Orive G. Bilateral Sinus Elevation Evaluating Plasma Rich in Growth Factors Technology: A Report of Five Cases. *Clin Implant Dent Relat Res.* 2012; 14:51-60.

Badr M, Coulthard P, Alissa R, Oliver R. The efficacy of platelet- rich plasma in grafted maxillae. A randomised clinical trial. *Eur J Oral Implantol.* 2010; 3:233–244.

Bettega G, Brun JP, Boutonnat J, Cracowski JL, Quesada JL, Hegelhofer H, Drillat P, Richard MJ. Autologous Platelet Concentrates for Bone Graft Enhancement in Sinus Lift Procedure. *Transfusion* 2009; 49:779-785.

Bolukbasi N, Ersanlı S, Keklikoglu N, Basegmez C, Ozdemir T. Sinus Augmentation With Platelet-Rich Fibrin in Combination With Bovine Bone Graft Versus Bovine Bone Graft in Combination With Collagen Membrane. *J Oral Implantol.* 2015; 41:586-595.

Bosshardt DD, Bornstein MM, Carrel JP, Buser D, Bernard JP. Maxillary Sinus Grafting With a Synthetic, Nanocrystalline Hydroxyapatite-Silica Gel in Humans: Histologic and Histomorphometric Results. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2014; 34:259-267.

Bozkurt Dogan S, Ongoz Dede F, Ballı U, Atalay EN, Durmuslar MC. Concentrated Growth Factor in the Treatment of Adjacent Multiple Gingival Recessions: A Split-Mouth Randomized Clinical Trial. *J Clin Periodontol* 2015, 42:868-875

Boyne PJ, James RA. Grafting of the maxillary sinus floor with autogenous marrow and bone. *J Oral Surg.* 1980; 38:613-616.

Cabbar F, Guler N, Kurkcu M, Iseri U, Sencift K. The effect of bovine bone graft with or without platelet- rich plasma on maxillary sinus floor augmentation. *J Oral Maxillofac Surg*. 2011; 69:2537-2547.

Carano RA, Filvaroff EH. Angiogenesis and bone repair. *Drug Discov Today*. 2003; 8:980-989.

Castro AB, Meschi N, Temmerman A, Pinto N, Lambrechts P, Teughels W, Quirynen M. Regenerative Potential of Leucocyte- And Platelet-Rich Fibrin. Part B: Sinus Floor Elevation, Alveolar Ridge Preservation and Implant Therapy. A Systematic Review. *J Clin Periodontol*. 2017; 44: 225-234

Cawood JJ, Howell RA. A classification of the edentulous jaws. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1988; 17:232-236.

Chen D, Zhao M, Mundy GR. Bone morphogenetic proteins. *Growth Factors*. 2004; 22:233-41.

Cheng H, Jiang W, Phillips FM, Haydon RC, Peng Y, Zhou L, Luu HH, An N, Breyer B, Vanichakarn P, Szatkowski JP, Park JY, He TC. Osteogenic activity of the fourteen types of human bone morphogenetic proteins (BMPs). *J Bone Joint Surg Am*. 2003; 85:1544-1552.

Choukroun J., Adda F., Schoeffl en C., Vervelle A. Une opportunit  en parodontologie: le PRF. *Implantodontie* 2001; 42:55-62

Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Dohan DM. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006a; 101:e56-60.

Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJ, 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. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2006b; 101:299-303

Choukroun J. Advanced PRF & i-PRF: platelet concentrates or blood concentrates? *J Periodont Med Clin Pract*. 2015; 1:3.

C mert Kılı  S, G ng rm ş M, Parlak SN. Histologic and Histomorphometric Assessment of Sinus-Floor Augmentation With Beta-Tricalcium Phosphate Alone or in Combination With Pure-Platelet-Rich

Plasma or Platelet-Rich Fibrin: A Randomized Clinical Trial. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2017; 19:959-967.

Consolo U, Zaffe D, Bertoldi C, Ceccherelli G. Platelet-rich Plasma Activity on Maxillary Sinus Floor Augmentation by Autologous Bone. *Clin Oral Implants Res* 2007, 18:252-262.

Corigliano M, Sacco L, Baldoni E. CGF- una proposta terapeutica per la medicina rigenerativa. *Odontoiatria*. 2010; 1:69–81

de Gorter DJ, van Dinther M, Korchynskiy O, ten Dijke P. Biphasic effects of transforming growth factor β on bone morphogenetic protein-induced osteoblast differentiation. *J Bone Miner Res*. 2011; 26:1178-1187.

Donos N, Lang NP, Karoussis IK, Bosshardt D, Tonetti M, Kostopoulos L. Effect of GBR in combination with deproteinized bovine bone mineral and/or enamel matrix proteins on the healing of critical-size defects. *Clin Oral Implants Res*. 2004; 15:101-111.

Donos N, Bosshardt D, Lang N, Graziani F, Tonetti M, Karring T, Kostopoulos L. Bone Formation by Enamel Matrix Proteins and Xenografts: An Experimental Study in the Rat Ramus. *Clin Oral Implants Res* 2005; 16:140-146

Donos N, Dereka X, Calciolari E. The Use of Bioactive Factors to Enhance Bone Regeneration: A Narrative Review. *J Clin Periodontol* 2019, 46 Suppl 21:124-161.

Del Fabbro M, Testori T, Francetti L, Weinstein R. Systematic review of survival rates for implants placed in the grafted maxillary sinus. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2004; 24:565-577.

Del Fabbro M, Corbella S, Weinstein T, Ceresoli V, Taschieri S. Implant Survival Rates After Osteotome-Mediated Maxillary Sinus Augmentation: A Systematic Review. *Clin Implant Dent Relat Res* 2012, 14:e159-168

Del Fabbro M, Corbella S, Ceresoli V, Ceci C, Taschieri S. Plasma Rich in Growth Factors Improves Patients' Postoperative Quality of Life in Maxillary Sinus Floor Augmentation: Preliminary Results of a Randomized Clinical Study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2015; 17:708-716.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I:

technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006a; 101:e37-44.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006b; 101:e45-50.

Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006c; 101:e51-55.

Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of Platelet Concentrates: From Pure Platelet-Rich Plasma (P-PRP) to Leucocyte- And Platelet-Rich Fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol* 2009; 27:158-167.

El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, Hasturk H, Liu H, Alshahat M, Van Dyke TE. Platelet-rich plasma: growth factors and pro- and anti-inflammatory properties. *J Periodontol.* 2007; 78:661-669.

Forni F, Marzagalli M, Tesei P, Grassi A. Platelet Gel: Applications in Dental Regenerative Surgery. *Blood Transfus* 2013; 11:102-107.

Fincham A G, Simmer J P. Amelogenin Proteins of Developing Dental Enamel. *Ciba Found Symp* 1997; 205:118-130; discussion 130-134.

Forabosco A, Gheno E, Spinato S, Garuti G, Forabosco E, Consolo U. Concentrated growth factors in maxillary sinus floor augmentation: A preliminary clinical comparative evaluation. *Int J Growth Factors Stem Cells Dent* 2018; 1:2-7.

Fugazzotto PA, Vlassis JM. A Simplified Classification and Repair System for Sinus Membrane Perforations. *J Periodontol.* 2003; 74:1534-1541.

Galindo-Moreno P, Avila G, Fernández-Barbero JE, Aguilar M, Sánchez-Fernández E, Cutando A, Wang HL. Evaluation of Sinus Floor Elevation Using a Composite Bone Graft Mixture. *Clin Oral Implants Res* 2007; 18:376-382.

Galindo-Moreno P, Padial-Molina M, Fernández-Barbero JE, Mesa F, Rodríguez-Martínez D, O'Valle F. Optimal microvessel density from composite graft of autogenous maxillary cortical bone and anorganic bovine

bone in sinus augmentation: influence of clinical variables. *Clin Oral Implants Res.* 2010; 21:221-227.

Galindo-Moreno P, Moreno-Riestra I, Avila G, Padial-Molina M, Paya JA, Wang HL, O'Valle F. Effect of anorganic bovine bone to autogenous cortical bone ratio upon bone remodeling patterns following maxillary sinus augmentation. *Clin Oral Implants Res.* 2011; 22: 857-864.

Gassling VL, Açil Y, Springer IN, Hubert N, Wiltfang J. Platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in human cell culture. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009; 108:48-55.

Gassling V, Purcz N, Braesen JH, Will M, Gierloff M, Behrens E, Açil Y, Wiltfang J. Comparison of Two Different Absorbable Membranes for the Coverage of Lateral Osteotomy Sites in Maxillary Sinus Augmentation: A Preliminary Study. *J Craniomaxillofac Surg.* 2013; 41:76-82.

Ghanaati S, Booms P, Orlowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, Landes C, Sader R, Kirkpatrick C, Choukroun J. Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *J Oral Implantol.* 2014; 40:679-689.

Graziani F, Ducci F, Tonelli M, Salam El Askary A, Monier M, Gabriele M. Maxillary Sinus Augmentation With Platelet-Rich Plasma and Fibrinogen Cryoprecipitate: A Tomographic Pilot Study. *Implant Dent* 2005; 14:63-69.

Gurler G, Delilbasi C. Effects of Leukocyte-Platelet Rich Fibrin on Postoperative Complications of Direct Sinus Lifting. *Minerva Stomatol.* 2016; 65:207-212.

Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration. *Nature.* 2008; 453:314-321.

Hallman M, Thor A. Bone substitutes and growth factors as an alternative/complement to autogenous bone for grafting in implant dentistry. *Periodontol 2000.* 2008; 47:172-192.

Handschel J, Simonowska M, Naujoks C, Depprich RA, Ommerborn MA, Meyer U, Kübler NR. A histomorphometric meta-analysis of sinus elevation with various grafting materials. *Head Face Med.* 2009; 5:12.

Hockers T, Abensur D, Valentini P, Legrand R, Hammerle CH. The combined use of bioresorbable membranes and xenografts or autografts in

the treatment of bone defects around implants. A study in beagle dogs. *Clin Oral Implants Res.* 1999; 10:487-498.

Hsiong SX, Mooney DJ. Regeneration of vascularized bone. *Periodontol 2000.* 2006; 41:109-122.

Inchingolo F, Tatullo M, Marrelli M, Inchingolo AM, Sacco S, Inchingolo AD, Dipalma G, Vermesan D, Abbinante A, Cagiano R. Trial With Platelet-Rich Fibrin and Bio-Oss Used as Grafting Materials in the Treatment of the Severe Maxillar Bone Atrophy: Clinical and Radiological Evaluations. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2010; 14:1075-1084.

Inchingolo F, Tatullo M, Marrelli M, Inchingolo AM, Inchingolo AD, Dipalma G, Flace P, Girolamo F, Tarullo A, Laino L, Sabatini R, Abbinante A, Cagiano R. Regenerative Surgery Performed With Platelet-Rich Plasma Used in Sinus Lift Elevation Before Dental Implant Surgery: An Useful Aid in Healing and Regeneration of Bone Tissue. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2012; 16:1222-1226.

Isobe K, Watanebe T, Kawabata H, Kitamura Y, Okudera T, Okudera H, Uematsu K, Okuda K, Nakata K, Tanaka Y, Kawase T. Mechanical and degradation properties of advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), concentrated growth factors (CGF), and platelet-poor plasma-derived fibrin (PPTF). *Int J Implant Dent.* 2017; 3:17

Jameson CA. Autologous Platelet Concentrate for the Production of Platelet Gel. *Laboratory Medicine.* 2007; 38:39-42

Javed F, Al-Askar M, Al-Rasheed A, Al-Hezaimi K. Significance of the platelet-derived growth factor in periodontal tissue regeneration. *Arch Oral Biol.* 2011; 56:1476-1484.

Jensen OT, Shulman LB, Block MS, Iacono VJ. Report of the Sinus Consensus Conference of 1996. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1998 ; 13 Suppl 11-45

Kao RT, Murakami S, Beirne OR. The use of biologic mediators and tissue engineering in dentistry. *Periodontol 2000.* 2009; 50:127-153.

Kawase T, Okuda K, Wolff LF, Yoshie H. Platelet-rich Plasma-Derived Fibrin Clot Formation Stimulates Collagen Synthesis in Periodontal Ligament and Osteoblastic Cells in Vitro. *J Periodontol.* 2003, 74:858-864.

Khairy NM, Shendy EE, Askar NA, El-Rouby DH. Effect of platelet rich plasma on bone regeneration in maxillary sinus augmentation (randomized clinical trial). *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2013; 42:249-255.

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; 42:272-280.

Kim JS, Cha JK, Lee JS, Choi SH, Cho KS. Increased Osteoinductivity and Mineralization by Minimal Concentration of Bone Morphogenetic protein-2 Loaded Onto Biphasic Calcium Phosphate in a Rabbit Sinus. *J Periodontal Implant Sci*. 2016; 46:350-359.

Krasny K, Kamiński A, Krasny M, Zadurska M, Piekarczyk P, Fiedor P. Clinical Use of Allogeneic Bone Granulates to Reconstruct Maxillary and Mandibular Alveolar Processes. *Transplant Proc*. 2011; 43:3142-3144.

Kumar NK, Shaik M, Nadella KR, Chintapalli BM. Comparative Study of Alveolar Bone Height and Implant Survival Rate Between Autogenous Bone Mixed With Platelet Rich Plasma Versus Venous Blood for Maxillary Sinus Lift Augmentation Procedure. *J Maxillofac Oral Surg*. 2015; 14:417-422.

Lee SH, Shin H. Matrices and scaffolds for delivery of bioactive molecules in bone and cartilage tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev*. 2007; 59:339-359.

Lei L, Yu Y, Han J, Shi D, Sun W, Zhang D, Chen L. Quantification of growth factors in advanced platelet-rich fibrin and concentrated growth factors and their clinical efficiency as adjunctive to the GTR procedure in periodontal intrabony defects. *J Periodontol*. 2019; 0:1-11

Listl S, Tu YK, Faggion CM Jr. A Cost-Effectiveness Evaluation of Enamel Matrix Derivatives Alone or in Conjunction With Regenerative Devices in the Treatment of Periodontal Intra-Osseous Defects. *J Clin Periodontol*. 2010; 37:920-927.

Maeda S, Hayashi M, Komiya S, Imamura T, Miyazono K. Endogenous TGF-beta signaling suppresses maturation of osteoblastic mesenchymal cells. *EMBO J*. 2004; 23:552-563.

Marinucci L, Lilli C, Baroni T, Becchetti E, Belcastro S, Balducci C, Locci P. In Vitro Comparison of Bioabsorbable and Non-Resorbable Membranes in Bone Regeneration. *J Periodontol*. 2001; 72:753-759.

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; 85:638-646

Masuki H, Okudera T, Watanebe T, Suzuki M, Nishiyama K, Okudera H, Nakata K, Uematsu K, Su CY, Kawase T. Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). *Int J Implant Dent.* 2016; 2:19.

Mayr-Wohlfart U, Waltenberger J, Hausser H, Kessler S, Günther KP, Dehio C, Puhl W, Brenner RE. Vascular endothelial growth factor stimulates chemotactic migration of primary human osteoblasts. *Bone.* 2002; 30:472-477.

Mazor Z, Peleg M, Garg AK, Luboshitz J. Platelet-rich Plasma for Bone Graft Enhancement in Sinus Floor Augmentation With Simultaneous Implant Placement: Patient Series Study. *Implant Dent.* 2004; 13:65-72.

Mazor Z, Horowitz RA, Del Corso M, Prasad HS, Rohrer MD, Dohan Ehrenfest DM. Sinus Floor Augmentation With Simultaneous Implant Placement Using Choukroun's Platelet-Rich Fibrin as the Sole Grafting Material: A Radiologic and Histologic Study at 6 Months. *J Periodontol.* 2009; 80:2056-2064.

Merli M, Moscatelli M, Mariotti G, Rotundo R, Nieri M. Autogenous bone versus deproteinised bovine bone matrix in 1-stage lateral sinus floor elevation in the severely atrophied maxilla: a randomized controlled trial. *Eur J Oral Implantol.* 2013; 6:27-37.

Merli M, Moscatelli M, Mariotti G, Pagliaro U, Bernardelli F, Nieri M. A minimally invasive technique for lateral maxillary sinus floor elevation: a Bayesian network study. *Clin. Oral Impl. Res.* 2016; 27:273-281.

Merli M, Moscatelli M, Pagliaro U, Mariotti G, Merli I, Nieri M. Implant prosthetic rehabilitation in partially edentulous patients with bone atrophy. An umbrella review based on systematic reviews of randomized controlled trials. *Eur J Oral Implantol.* 2018; 11:261-280.

Miron RJ, Zucchelli G, Pikos MA, Salama M, Lee S, Guillemette V, Fujioka-Kobayashi M, Bishara M, Zhang Y, Wang HL, Chandad F, Nacopoulos C, Simonpieri A, Aalam AA, Felice P, Sammartino G, Ghanaati S, Hernandez MA, Choukroun J. Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. *Clin Oral Investig.* 2017; 21:1913-1927

Mordenfeld A, Hallman M, Johansson CB, Albrektsson T. Histological and histomorphometrical analyses of biopsies harvested 11 years after maxillary sinus floor augmentation with deproteinized bovine and autogenous bone. *Clin Oral Implants Res.* 2010; 21:961-970.

Mordenfeld A, Johansson CB, Albrektsson T, Hallman M. A randomized and controlled clinical trial of two different compositions of deproteinized bovine bone and autogenous bone used for lateral ridge augmentation. *Clin Oral Implants Res.* 2014; 25:310-320.

Murai M, Sato S, Koshi R, Yokoyama K, Ikeda K, Narukawa M, Takayama T, Yoshinuma N, Ito K. Effects of the Enamel Matrix Derivative and Beta-Tricalcium Phosphate on Bone Augmentation Within a Titanium Cap in Rabbit Calvarium. *J Oral Sci* 2005; 47:209-217.

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; 74:1282-1292.

Nkenke E, Stelzle F. Clinical outcomes of sinus floor augmentation for implant placement using autogenous bone or bone substitutes: a systematic review. *Clin Oral Implants Res.* 2009; 20 Suppl 4:124-133.

Nishimura F, Terranova VP. Comparative study of the chemotactic responses of periodontal ligament cells and gingival fibroblasts to polypeptide growth factors. *J Dent Res.* 1996; 75:986-992.

Nizam N, Eren G, Akcalı A, Donos N. Maxillary Sinus Augmentation With Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin and Deproteinized Bovine Bone Mineral: A Split-Mouth Histological and Histomorphometric Study. *Clin Oral Implants Res.* 2018; 29:67-75.

Nyush A. Platelet Rich Fibrin in Regenerative Dentistry Biological Background and Clinical Indications. This edition first published 2017 © 2017 John Wiley & Sons Ltd

Ohba S, Hojo H, Chung U. Bioactive factors for tissue regeneration: state of the art. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2012; 2:193–203.

Olgun E, Ozkan SY, Atmaca HT, Yalim M, Hendek MK. Comparison of the Clinical, Radiographic, and Histological Effects of Titanium-Prepared

Platelet Rich Fibrin to Allograft Materials in Sinus-Lifting Procedures. *J Invest Clin Dent*. 2018; 9:e12347.

Öncü E, Bayram B, Kantarci A, Gülsever S, Alaaddinoğlu EE. Positive Effect of Platelet Rich Fibrin on Osseointegration. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2016; 21:e601-607.

Öncü E, Kaymaz E. Assessment of the effectiveness of platelet rich fibrin in the treatment of Schneiderian membrane perforation. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2017; 19:1009–1014.

Ornitz DM, Itoh N. Fibroblast growth factors. *Genome Biol*. 2001; 2:REVIEWS3005.

Pierce GF, Mustoe TA, Altrock BW, Deuel TF, Thomason A. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *J Cell Biochem*. 1991; 45:319-326.

Poeschl PW, Ziya-Ghazvini F, Schicho K, Buchta C, Moser D, Seemann R, Ewers R, Schopper C. Application of Platelet-Rich Plasma for Enhanced Bone Regeneration in Grafted Sinus. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012; 70:657-664.

Postlethwaite AE, Keski-Oja J, Moses HL, Kang AH. Stimulation of the chemotactic migration of human fibroblasts by transforming growth factor beta. *J Exp Med*. 1987; 165:251-256.

Qiao J, An N, Ouyang X. Quantification of growth factors in different platelet concentrates. *Platelets*. 2017; 28:774-778.

Quarto N, Wan DC, Longaker MT. Molecular mechanisms of FGF-2 inhibitory activity in the osteogenic context of mouse adipose-derived stem cells (mASCs). *Bone*. 2008; 42:1040-1052.

Raghoobar, GM, Schortinghuis J, Liem RS, Ruben JL, van der Wal JE, Vissink A. Does platelet- rich plasma promote remodeling of autologous bone grafts used for augmentation of the maxillary sinus floor? *Clin Oral Implants Res*. 2005; 16:349–356.

Rickert D, Sauerbier S, Nagursky H, Menne D, Vissink A, Raghoobar GM. Maxillary sinus floor elevation with bovine bone mineral combined with either autogenous bone or autogenous stem cells: a prospective randomized clinical trial. *Clin Oral Implants Res*. 2011; 22:251-258.

Rickert D, Vissink A, Slater JJ, Meijer HJ, Raghoobar GM. Comparison between conventional and piezoelectric surgical tools for maxillary sinus floor elevation. A randomized controlled clinical trial. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2013; 15:297-302.

Rodriguez A, Anastassov GE, Lee H, Buchbinder D, Wettan H. Maxillary Sinus Augmentation With Deproteinized Bovine Bone and Platelet Rich Plasma With Simultaneous Insertion of Endosseous Implants. *J Oral Maxillofac Surg*. 2003; 61:157-163.

Sant'Ana AC, Marques MM, Barroso TE, Passanezi E, de Rezende ML. Effects of TGF-beta1, PDGF-BB, and IGF-1 on the rate of proliferation and adhesion of a periodontal ligament cell lineage in vitro. *J Periodontol*. 2007; 78:2007-2017.

Schaaf H, Streckbein P, Lendeckel S, Heidinger KS, Rehmann P, Boedeker RH, Howaldt HP. Sinus lift augmentation using autogenous bone grafts and platelet- rich plasma: radiographic results. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2008; 106:673-678.

Schlegel AK, Donath K. BIO-OSS--a resorbable bone substitute? *J Long Term Eff Med Implants*. 1998; 8:201-209.

Simonpieri A, Choukroun J, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Simultaneous Sinus-Lift and Implantation Using Microthreaded Implants and Leukocyte- And Platelet-Rich Fibrin as Sole Grafting Material: A Six-Year Experience. *Implant Dent*. 2011; 20:2-12.

Skoglund A, Hising P, Young C. A clinical and histologic examination in humans of the osseous response to implanted natural bone mineral. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1997; 12:194-199.

Smith PC, Cáceres M, Martinez J. Induction of the myofibroblastic phenotype in human gingival fibroblasts by transforming growth factor-beta1: role of RhoA-ROCK and c-Jun N-terminal kinase signaling pathways. *J Periodontal Res*. 2006; 41:418-425.

Smith PC, Martínez C, Cáceres M, Martínez J. Research on growth factors in periodontology. *Periodontol 2000*. 2015; 67:234-250

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; 20:389-395.

Tajima N, Ohba S, Sawase T, Asahina I. Evaluation of Sinus Floor Augmentation With Simultaneous Implant Placement Using Platelet-Rich Fibrin as Sole Grafting Material. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2013; 28:77-83.

Tayapongsak P, O'Brien DA, Monteiro CB, Arceo-Diaz LY. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *J Oral Maxillofac Surg*. 1994; 52:161-165; discussion 166

Taschieri S, Corbella S, Weinstein R, Di Giancamillo A, Mortellaro C, Del Fabbro M. Maxillary Sinus Floor Elevation Using Platelet-Rich Plasma Combined With Either Biphasic Calcium Phosphate or Deproteinized Bovine Bone. *J Craniofac Surg*. 2016; 27:702-707.

Tatullo M, Marrelli M, Cassetta M, Pacifici A, Stefanelli LV, Scacco S, Dipalma G, Pacifici L, Inchingolo F. Platelet Rich Fibrin (P.R.F.) in Reconstructive Surgery of Atrophied Maxillary Bones: Clinical and Histological Evaluations. *Int J Med Sci*. 2012; 9:872-880.

Tatum OH, "Lecture presented to the Alabama Implant Congress," 1976.

Testori T, Weinstein RL, Taschieri S, Del Fabbro M. Risk factor analysis following maxillary sinus augmentation: a retrospective multicenter study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2012; 27:1170-6.

Testori T, Weinstein T, Taschieri S, Wallace SS. Risk factors in lateral window sinus elevation surgery. *Periodontol 2000*. 2019; 81:91–123.

Torres J, Tamimi F, Martinez PP, Alkhraisat MH, Linares R, Hernández G, Torres-Macho J, López-Cabarcos E. Effect of Platelet-Rich Plasma on Sinus Lifting: A Randomized-Controlled Clinical Trial. *J Clin Periodontol*. 2009; 36:677-687.

Thor A, Wannfors K, Sennerby L, Rasmusson L. Reconstruction of the severely resorbed maxilla with autogenous bone, platelet- rich plasma, and implants: 1- year results of a controlled prospective 5- year study. *Clin Implant Dent Relat Res*. 2005; 7:209-220.

Tsialogiannis E, Polyzois I, Oak Tang Q, Pavlou G, Tsiridis E, Heliotis M, Tsiridis E. Targeting bone morphogenetic protein antagonists: in vitro and in vivo evidence of their role in bone metabolism. *Expert Opin Ther Targets*. 2009; 13:123-137.

Velich N, Németh Z, Tóth C, Szabó G. Long-term results with different bone substitutes used for sinus floor elevation. *J Craniofac Surg*. 2004; 15:38-41.

Vercellotti T, De Paoli S, Nevins M. The piezoelectric bony window osteotomy and sinus membrane elevation: introduction of a new technique for simplification of the sinus augmentation procedure. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2001; 21:561-567.

Vlassis JM, Fugazzotto PA. A Classification System for Sinus Membrane Perforations During Augmentation Procedures With Options for Repair. *J Periodontol*. 1999; 70:692-699.

Wallace SS, Froum SJ. Effect of Maxillary Sinus Augmentation on the Survival of Endosseous Dental Implants. A Systematic Review. *Ann Periodontol*. 2003; 8:328-843.

Wallace SS, Tarnow DP, Froum SJ, Cho SC, Zadeh HH, Stoupel J, Del Fabbro M, Testori T. Maxillary sinus elevation by lateral window approach: evolution of technology and technique. *J Evid Based Dent Pract*. 2012; 12:161-171.

Werner H, Katz J. The emerging role of the insulin-like growth factors in oral biology. *J Dent Res*. 2004; 83:832-836.

Wiltfang J, Schlegel KA, Schultze-Mosgau S, Nkenke E, Zimmermann R, Kessler P. Sinus Floor Augmentation With Beta-Tricalciumphosphate (beta-TCP): Does Platelet-Rich Plasma Promote Its Osseous Integration and Degradation? *Clin Oral Implants Res*. 2003; 14:213-218.

Yilmaz S, Ozkan Karaca E, Dirikan Ipci S, Cakar G, Kuru BE, Kullu S, Horwitz J. Radiographic and Histologic Evaluation of Platelet-Rich Plasma and Bovine-Derived Xenograft Combination in Bilateral Sinus Augmentation Procedure. *Platelets*. 2013; 24:308-315.

Yu M, Wang X, Liu Y, Qiao J. Cytokine release kinetics of concentrated growth factors in different scaffolds. *Clin Oral Investig*. 2019; 23:1663-1671.

Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-Fan X. Effects of Choukroun's Platelet-Rich Fibrin on Bone Regeneration in Combination With Deproteinized Bovine Bone Mineral in Maxillary Sinus Augmentation: A Histological and Histomorphometric Study. *J Craniomaxillofac Surg*. 2012; 40:321-328.