

**89° Congresso**

**Società Italiana di Ortopedia e  
Traumatologia**

**I trapianti ossei e i sostituti dell'osso.  
Le deformità angolari e rotatorie  
degli arti inferiori  
Abstracts**

Napoli, 24-28 Ottobre 2004

Presidenti: N. de Sanctis, G. Guida

 Springer

Springer fa parte di Springer Science+Business Media

© Springer-Verlag Italia, Milano 2004

ISBN 88-470-0204-4

Quest'opera è protetta dalla legge sul diritto d'autore. Tutti i diritti, in particolare quelli relativi alla traduzione, alla ristampa, all'utilizzo di illustrazioni e tabelle, alla citazione orale, alla trasmissione radiofonica o televisiva, alla registrazione su microfilm o in database, o alla riproduzione in qualsiasi altra forma (stampata o elettronica) rimangono riservati anche nel caso di utilizzo parziale. La riproduzione di quest'opera, anche se parziale, è ammessa solo ed esclusivamente nei limiti stabiliti dalla legge sul diritto d'autore, ed è soggetta all'autorizzazione dell'editore. La violazione delle norme comporta le sanzioni previste dalla legge.

L'utilizzo in questa pubblicazione di denominazioni generiche, nomi commerciali, marchi registrati, ecc. anche se non specificatamente identificati, non implica che tali denominazioni o marchi non siano protetti dalle relative leggi e regolamenti.

Responsabilità legale per i prodotti: l'editore non può garantire l'esattezza delle indicazioni sui dosaggi e l'impiego dei prodotti menzionati nella presente opera. Il lettore dovrà di volta in volta verificarne l'esattezza consultando la bibliografia di pertinenza.

Copertina: Simona Colombo, Milano

Impaginazione: Graphostudio, Milano

Stampato in Italia: Arti Grafiche Nidasio, Assago

7. Mohan S, Baylink DJ (1991) Bone growth factors. Clin Orthop 263:30-41
8. Sipe JE, Waits CA, Skikne B et al (2002) The presence of bone morphogenetic proteins (BMPs) in megakaryocytes and platelets. American Society of Bone and Mineral Research
9. M, Patava J, Kingham K, Mason RS (1995) Involvement of platelets in stimulating osteogenetic activity. J Orthop Res 13(5):655-663
10. Canalis E, McCarthy TL, Centrella M (1989) Effects of platelet-derived growth factor on bone formation in vitro. J Cell Physiol 140:530-537

## UTILIZZO DI MATRICE OSSEA DEMINERALIZZATA (GRAFTON® DBM) NELLA RICOSTRUZIONE DI DIFETTI OSSEI IN ORTOPEDIA

O. Yazigee, W. Ruether, C.H. Lohmann

Department of Orthopaedics, University of Eppendorf, Hamburg, Germania

**Oggetto** Differenti strategie vengono utilizzate nella ricostruzione di difetti ossei in chirurgia ortopedica [1]. Qui, noi presentiamo la nostra esperienza, utilizzando una matrice di osso demineralizzato (Grafton® [2]), da solo o mescolato con granuli di spongiosa omologa, e/o con osso autologo del paziente. Trentaquattro pazienti con differenti patologie ossee, sono stati trattati nei modi sopra descritti. Il follow-up post-operatorio andava dai 6 mesi a 2,5 anni.

**Materiali e metodi** Trentaquattro pazienti (14 uomini, 20 donne, età 7-79 anni) avevano le seguenti diagnosi: 8 mobilizzazioni asettiche di impianti protesici di anca, 2 pseudoartrosi, 22 tumori ossei benigni (ganglioma intraosseo, encondroma, displasia fibrosa, cisti ossea unicamerata, cisti ossea aneurismatica), 1 frattura di femore, 1 spondilodisi. 12 patients sono stati trattati con solo Grafton DBM; 3 con Grafton DBM + osso autologo; 5 con Grafton DBM + granuli di spongiosa omologa + osso autologo; 11 con Grafton DBM + granuli di spongiosa omologa; 3 con granuli di spongiosa omologa + osso autologo.

**Risultati** Tre mesi dopo l'intervento chirurgico, sono state riscontrate evidenze radiologiche di un completo riempimento del difetto osseo, e tutti i pazienti erano in pieno carico a quel tempo. Non si sono verificate reazioni allergiche/avverse al materiale utilizzato.

**Discussione** Il Grafton DBM da solo o in combinazione con granuli di spongiosa omologa ha mostrato una buona capacità di formazione di nuovo osso e di riorganizzazione del difetto osseo in differenti situazioni sia per la dimensione del difetto, sia per l'età dei pazienti. Comunque, il tipo di problema, la presenza o meno di una buona vascolarizzazione e di midollo osseo nel sito di innesto, rappresentano importanti aspetti nella valutazione della necessità di utilizzare anche osso autologo in aggiunta al Grafton DBM.

**Conclusioni** Il Grafton DBM e i granuli di spongiosa omologa, sono un'eccellente alternativa all'uso di osso autologo, riducendo così le problematiche legate al prelievo di osso autologo. L'osso autologo rimane lo standard di riferimento nella valutazione dell'efficacia di un materiale di innesto.

### Bibliografia

1. Rueger JM (1996) Bone substitutes. State of the art and: what lies ahead? Unfallchirurg 99:228-236
2. Martin GJ Jr, Boden SD, Titus L, Scarborough NL (1999) New formulations of demineralized bone matrix as a more effective graft alternative in experimental posterolateral lumbar spine arthrodesis. Spine 1; 24(7):637-645

## IL VEGF LEGATO ALLA MATRICE EXTRACELLULARE NELL'OSSO DEMINERALIZZATO

<sup>1</sup>A. Beccheroni, <sup>1</sup>E. Lucarelli, <sup>1</sup>N. di Maggio, <sup>2</sup>C. Zolezzi, <sup>2</sup>A. Bassi, <sup>2</sup>C. Quinto, <sup>4</sup>M. Mercuri, <sup>1,2,4</sup>D. Donati, <sup>2,3</sup>P. Fornasari

<sup>1</sup>Laboratorio di Rigenerazione ed Ingegneria Tissutale, <sup>2</sup>Banca del Tessuto Muscoloscheletrico, <sup>3</sup>Servizio Trasfusionale, <sup>4</sup>Reparto di Oncologia Ortopedica, Istituti Ortopedici Rizzoli, Bologna

L'osso demineralizzato (DBM) gioca un ruolo chiave nella chirurgia ortopedica ricostruttiva. Ormai è assodato che i fattori di crescita contenuti nell'innesto vengono esposti proprio dal processo di demineralizzazione. La DBM impiantata è acellulare; quindi, il buon esito della ricostruzione dipenderà dalla capacità del letto vascolare dell'ospite di fornire cellule vitali in grado di andare a formare osso vitale laddove non è presente. L'angiogenesi è un processo mediante il quale vengono formati nuovi capillari a partire da vasi pre-esistenti: questa rete vascolare neo-formata ha la funzione di fornire nutrimento al tessuto in fase di crescita o di riparazione. I fattori di crescita che hanno un effetto positivo sulle cellule endoteliali devono essere espressi in modo coordinato e complementare per poter permettere la formazione di vasi sanguigni funzionali. Tra questi ricordiamo molecole come il VEGF, il FGF-2 e l'angiopoietina. Il VEGF ha 5 isoforme (121, 145, 165, 189, 206 aminoacidi); sebbene le forme più corte siano quelle più diffuse, le due più lunghe, una volta secrete, rimangono a livello della membrana cellulare e della matrice extracellulare. Questo studio ha lo scopo di determinare il potenziale angiogenico della DBM valutando la quantità di VEGF presente nell'osso demineralizzato. I livelli della proteina VEGF sono stati determinati mediante test ELISA. In tutti i campioni di DBM esaminati i livelli di VEGF erano superiori a 500ng/ml, una concentrazione sufficiente per indurre la formazione di nuovi vasi. Questi risultati indicano che la DBM può promuovere la riparazione tissutale anche mediante la neo-angiogenesi.

## L'IMPIEGO DELLA MATRICE OSSEA DEMINERALIZZATA COME ADIUVANTE NELLA CHIRURGIA ORTOPEDICA

<sup>1</sup>S. Ghera, <sup>2</sup>G. Cannata, <sup>1</sup>M. Pietropaolo, <sup>2</sup>D. Bellini, <sup>1</sup>M. Calderaro, <sup>2</sup>U. Tarantino

<sup>1</sup>II Divisione di Ortopedia, Ospedale S. Pietro Fatebenefratelli, Roma; <sup>2</sup>Area di Ortopedia e Traumatologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico Tor Vergata, Roma

Viene illustrata la nostra esperienza iniziale con il Grafton, materiale corrispondente a matrice ossea demineralizzata (DBM), ottenuto da cadavere, che presenta interessanti caratteristiche: 1) *osteoiduzione*: contiene BMP (bone morphogenic protein) ed un pool di circa 16 proteine isolate in vitro, di natura umana, con potenzialità osteoinduttive e proliferative: quando impiantato attiva un processo di ossificazione encondrale [1]; 2) *osteocostruzione*: ove si impieghi il preparato associato ad uno scaffold, il grafton ha proprietà osteoconduttive; 3) *sicurezza*: lo screening dei donatori si attua con test sierologici sulla ricerca degli anticorpi per virus Epatite A, antigene di superficie Epatite B, anticorpi Epatite B, anticorpi per Epatite C, anticorpi per HIV, antigene diretto per HIV, anticorpi per linfoma cell. T, sifilide, analisi ematiche con ricerca degli indici infettivi (VES e PCR), ricerca del DNA virale. Particolarmente importante è la *processazione del materiale*: viene effettuata la pulizia dai tessuti molli, si tratta il campione con soluzione antibiotata con bacitracina e polimixina B, si procede a lavaggi per la rimozione di lipidi, midollo e sangue, quindi si lava il tutto in bagno di ultrasuoni per 60' in sol. al 70% etanolo. Si procede quindi alla *demineralizzazione*: il prodotto viene portato alle dimensioni definitive e trattato con acido idroclorico 0.6 N per circa 3 ore; le particelle vengono quindi trattate dapprima con acqua e poi con soluzione di fosfati 0.1 M per determinare il pH finale. Il processo di demineralizzazione cui è sottoposto il grafton inattiva i virus mantenendo inalterate le proprietà osteoinduttive del tessuto [2]. A questo punto il tessuto viene liofilizzato, impacchettato e nuovamente liofilizzato. I processi cui è sottoposto il materiale sono in grado di disattivare virus come quelli dell'HIV, dell'epatite, della polio ed il citomegalovirus. È previsto un trattamento con raggi gamma a basse dosi. Il Grafton è disponibile in diverse forme fisiche: Flex, estremamente adattabile sui siti, Putty, Gel, Crunch (zolle di tessuto osseo miste a fibre di DBM), Matrix, Plugs, Pasta (in siringa); la preparazione come pasta è utilissima perché si può mescolare a qualsiasi tipo di tessuto osseo disponibile e non si attacca ai guanti e può essere sottoposta a lavaggio.

**Casistica** Nelle prime esperienze, abbiamo trattato 14 casi di revisione di protesi di anca classificate del tipo GIR II, III e IV, stipando DBM nell'acetabolo o nel canale femorale. In 6 casi di pseudoartrosi post-traumatica, abbiamo stipato il focolaio con pasta (2 casi nell'avambraccio e 1 caso nella tibia) e crunch (3 casi nella tibia). Di solito mescoliamo bone chips e DBM. Il materiale è stato anche impiegato nel borraggio di 15 lesioni neoplastiche benigne dopo curettage (8 fibromi non ossificanti, 6 condromi, 1 displasia fibrosa vertebrale).

**Discussione** I processi di inattivazione classici dei virus hanno mostrato di deteriorare le proprietà osteoinduttive ed osteoconduttive dell'osso. Il grafton invece sembra possedere notevoli vantaggi senza i classici svantaggi del materiale osseo trattato in via classica. È estremamente difficile quantificare l'evoluzione del callo con e senza uso di Grafton, ma si deve desumere un'evoluzione più veloce della formazione di tessuto osseo riparativo, dimostrata da studi clinici e sperimentali in altri campi. Dal punto di vista radiografico nei nostri casi ciò sembrerebbe pienamente confermato. Particolarmente utile ci è sembrato il suo impiego nei grossi difetti cavitari acetabolari e negli innesti ossei pressurizzati a livello dello stelo nella tecnica tipo x-change come augmentation. L'impiego della DBM produce neoformazione ossea mediante osteoinduzione ed osteoconduzione, come struttura su cui si appone tessuto neoformato: va ricordata la maggiore osteoconduttività del preparato in forma di fibre. La DBM in chirurgia di revisione può abbreviare notevolmente il tempo operatorio ed il periodo di ristrutturazione, riparazione e riabilitazione del tessuto osseo, con indubbi vantaggi clinici. Dal punto di vista biologico si tratta di un materiale sicuro, come dimostrato dai numerosi impianti eseguiti negli Stati Uniti. Con esso vengono risolti i problemi legati al reperimento di sufficiente tessuto da innestare, eliminando del tutto la morbilità del prelievo dalla cresta iliaca. Il reperimento è facile, naturalmente a fronte di un costo aggiuntivo. A nostro avviso è quindi un presidio utile con valide prospettive future.

#### Bibliografia

1. Urist MR (1965) Bone formation by autoinduction. *Science* 150:893-899
2. Swenson CL, Arnoczky SP (2003) Demineralization for inactivation of infectious retrovirus in systemically infected cortical bone: in vitro and in vivo experimental studies. *J Bone Joint Surg Am* 85:323-332

### NOSTRE ESPERIENZE SULL'UTILIZZO DI DBM (MATRICE DI OSSO UMANO DEMINERALIZZATO) IN ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA

G. Spagnoli, MP. Pasquali, A. Meyer, <sup>1</sup>M. Malavolta, <sup>1</sup>I. Celli U.O. Ortopedia e Traumatologia, O.C. S. Maria del Carmine Rovereto (Tn); <sup>1</sup>Clinica Ortopedica, Università di Udine

Riportiamo la nostra esperienza di circa quattro anni riguardante l'utilizzo di DBM nel trattamento di patologie complesse caratterizzate da lesioni con perdita di tessuto osseo o con scarsa capacità rigenerativa quali: pseudoartrosi congenite ed acquisite, esiti di osteomielite, mobilizzazioni asettiche di impianti protesici, fratture complicate da perdita di tessuto osseo etc. Visti i limiti riconosciuti del trapianto autologo (quantità limitata, infezioni e fratture in zona di prelievo, aumento dei tempi operatori e di sanguinamento, ernie addominali etc.), abbiamo cercato di individuare in letteratura, dei materiali alternativi che più si avvicinassero alle capacità osteoconduttive ed osteoinduttive proprie del trapianto autologo nel pieno rispetto della bio ed immunocompatibilità. Dal maggio 2000, abbiamo utilizzato il DBM in 50 casi dei quali i primi 15 con tecnica mista (trapianto autologo più DBM) e gli altri 35 con solo DBM. Abbiamo ricontrollato clinicamente e radiograficamente tutti i Pazienti con un follow-up medio di 34 mesi. Dall'analisi dei risultati abbiamo osservato: a parità di patologia e tecnica operatoria tempi di guarigione sovrapponibili nei casi trattati con tecnica mista e con solo DBM, precoce comparsa di rigenerato osseo anche nei casi trattati con osteosintesi rigida ed in soggetti osteoporotici, nessuna com-

plicanza legata a rigetto e fenomeni di riassorbimento in area di innesto a conferma della buona capacità osteoconduttiva ed osteoconduttiva del DBM.

### CELLULE STAMINALI E FATTORI DI CRESCITA OSSEA (AGF): DAL LABORATORIO ALLA CLINICA. STUDIO EX VIVO IN VITRO

J.M. Taglioretti, <sup>1</sup>V. Tantalò, R. Facchini  
Clinica Ortopedica CTO, <sup>1</sup>Centro Trasfusionale, ICP, Milano

**Oggetto** Dagli studi di Urist (1965), di Sampath e di Reddi (1981) sul ruolo delle proteine morfogenetiche BMP e più in particolare BMPs/OPs nel complesso meccanismo della rigenerazione ossea ai recenti studi sulle proprietà dei singoli elementi della superfamiglia degli AGF di derivazione piastrinica, molti progressi sono stati fatti in ambito di ricerca da un lato e di applicazione clinica dall'altro. Non esistono, però, ad oggi, criteri oggettivi per la valutazione dell'out-come dei pazienti trattati, soprattutto per il breve-medio termine, che ci indichino se e quale elemento abbia innescato il processo riparativo, e quando, e quale elemento possa influenzarne favorevolmente il decorso. Con l'obiettivo di contribuire al chiarimento di questi quesiti abbiamo condotto c/o la Clinica Ortopedica dell'Università di Milano-CTO-ICP, uno studio prospettico parallelo tra l'utilizzo clinico di Cellule Staminali arricchite con Fattori di Crescita Autologhi (AGF) e la valutazione ex-vivo in vitro dell'attivazione piastrinica sull'osteoblasta del paziente trattato.

**Materiali e metodi** Dal Marzo 2002 al Gennaio 2004 sono stati trattati con l'utilizzo di Cellule Staminali e Fattori di Crescita Ossea Autologhi (AGF), protocollo approvato dal Comitato Etico ICP, 21 pazienti affetti da patologie comportanti osteolisi così rappresentati: n. 17 casi di osteolisi in corso di mobilizzazione protesica (n. 6 anca - n. 7 ginocchio), n. 2 casi di pseudoartrosi (n. 1 ulna - n. 1 omero), n. 1 caso di cisti aneurismatica recidivante femore, n. 1 caso di necrosi asettica testa femore. La procedura prevedeva l'utilizzo di cellule staminali+fattori di crescita+innesto di Osso Autologo (2 casi) o innesto di Osso di Banca (13 casi), o idrossiapatite (2 casi) + colla di fibrina autologa, e, parallelamente, la coltura in vitro degli osteoblasti del paziente attivati con AGF. Tra gli AGF il PDGF è un importante mitogeno; tra le sue isoforme il PDGF-AA e il PDGF-AB vengono rilasciati dalle piastrine attivate. Il PDGF-AA viene rilasciato anche dagli osteoblasti. Entrambe sono state dosate a 0-4-8 gg nel sovrantante di colture di: osteoblasti, osteoblasti+gel di piastrine, gel di piastrine; e, parallelamente, è stata valutata la proliferazione cellulare. A termine è stato effettuato esame citologico.

**Risultati** Lo studio ha dimostrato che il PDGF-AA incrementa notevolmente nelle colture in cui veniva aggiunto gel piastrinico agli osteoblasti, più che nelle altre colture; potrebbe quindi essere espressione dell'attivazione piastrinica sull'osteoblasta e, forse, avere un ruolo causale nel processo osteogenetico. In tutti i pazienti trattati si è raggiunta osteointegrazione degli innesti e consolidamento osseo. L'utilizzo della colla di fibrina autologa e, quindi, anch'essa arricchita di AGF, ha mostrato oltre ai vantaggi riferiti in letteratura in termini di risparmio ematico e di tenuta degli innesti, anche un miglior trofismo dei tessuti molli e della cicatrice.

**Conclusioni** La disomogeneità della casistica non consente conclusioni statistiche. La rapidità e la qualità della riparazione ossea ottenuta nei singoli casi trattati confrontato con quanto attendibile con i trattamenti convenzionali in alcuni casi, o con i risultati deficitari ottenuti in altri con le procedure note hanno ingenerato soddisfazione nei pazienti e stimolo negli autori a proseguire ricerche, studi ed applicazioni cliniche in questo ambito.

### L'IMPIEGO DEL FOSFATO TRICALCICO (NORIAN SRS) IN CHIRURGIA ORTOPEDICA PEDIATRICA

C. Origo, A. Buggea  
S.O.C. Ortopedia e Traumatologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo, Alessandria