

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
Departamento de Estomatología III



**TESIS DOCTORAL**

**Alveolos post-extracción: cicatrización espontánea vs implante  
inmediato**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

**Nicola Discepoli**

Director  
Mariano Sanz Alonso

**Madrid, 2016**

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**Departamento de Estomatología III**



**TESIS DOCTORAL**

**Alveolos post-extracción:  
Cicatrización espontanea vs Implante inmediato**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

Nicola Discepoli

Director: Prof. Dr. D. Mariano Sanz Alonso

Madrid 2015

**Departamento de Estomatología III  
Facultad de Odontología  
Universidad Complutense de Madrid, España**

**Alveolos post-extracción:  
Cicatrización Espontanea vs Implante inmediato**

Nicola Discepoli

Tesis Doctoral

Dirigida por: Prof. Dr. D. Mariano Sanz Alonso

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

## I. Agradecimientos

## II. Resumen

## III. Introducción

### 1. Biología del tejido óseo: Modelado y Remodelado

#### 1.1. Composición

#### 1.2. Desarrollo del hueso

##### 1.1.1. Osificación

##### 1.1.2. Osificación del hueso alveolar y papel de la Matriz Provisional (MP)

#### 1.3. Modelado y remodelado óseo

#### 1.4. Modelado y remodelado del hueso alveolar

### 2. Cicatrización de los alveolos tras la extracción de un diente

#### 2.1 Cambios internos: estudios preclínicos

#### 2.2 Cambios internos: estudios clínicos

#### 2.3 Cambios externos: estudios preclínicos

#### 2.4 Cambios externos: estudios clínicos

#### 2.5 Factores influyentes en el proceso de cicatrización

### 3. Colocación de Implantes dentales en alveolos postC extracción

#### 3.1 Alteraciones de la cresta

#### 3.2 Factores influyentes en el proceso de cicatrización

### 4. Comparación entre Implante inmediato y alveolos postC extracción

## IV. Justificación

## V. Hipótesis

## VI. Objetivos

## VII. Material y Métodos y Resultados

Estudio 1: Vignoletti, F., Discepoli, N., Müller, A., De Sanctis, M., Muñoz, F. & Sanz, M. (2012) Bone modelling at fresh extraction sockets: Immediate implant placement versus spontaneous healing. An experimental study in the beagle dog. *Journal of Clinical Periodontology* **39**, 91–97.

Estudio 2: Discepoli, N., Vignoletti, F., Laino, L., De Sanctis, M., Muñoz, F. & Sanz, M. (2013) Early healing of the alveolar process after tooth extraction: An experimental study in the beagle dog. *Journal of Clinical Periodontology* **40**, 638–644.

Estudio 3: Discepoli, N., Vignoletti, F., Laino, L., de Sanctis, M., Muñoz, F. & Sanz, M. (2014) Fresh extraction socket: spontaneous healing vs. immediate implant placement. *Clinical oral implants research*, **26**, 2015, 1250-1255

## VIII. Discusión

## IX. Conclusiones

## X. Referencias

## XI. ANEXO I (Resumen en Inglés)



## **I AGRADECIMIENTOS**

## **II RESUMEN**

Los cambios dimensionales que acontecen tras la extracción de uno o mas dientes están detenidamente descritos en la literatura científica. Desde los primeros estudios simplemente descriptivos hasta los estudios mas reciente se ha descrito la secuencia de eventos biológicos que llevan a las modificaciones histológicas y dimensionales de la cresta residual. Los cambios dimensionales que acontecen pueden influenciar clínicamente el plan de tratamiento. Entre las opciones plausibles para tratar la zona edentula existe la posibilidad de colocar un implante inmediatamente tras la extracción.

Sin embargo existe una evidencia limitada en la literatura sobre las diferencias de cicatrización entre el implante inmediato y la cicatrización espontanea del alveolo, tras la extracción de un diente. Solamente en un estudio publicado por la escuela Sueca (Araujo et al. 2005) ha comparado los acontecimientos biológicos y las alteraciones de la cresta entre el alveolo dejado cicatrizar espontáneamente y la colocación inmediata del implante en la misma hemi-mandíbula. .En ambos grupos el remodelado de la cresta fue muy marcado, y la colocación del implante no fue capaz de contrarrestar este remodelado.

Los principales objetivos del presente trabajo de investigación por lo tanto son i) describir los resultados histológicos e histométricos de la comparación entre implante post extracción y cicatrización espontanea de alveolos adyacentes tras un tiempo de 6 semanas de evaluacion (estudio 1); ii) describir la fases de cicatrización temprana de los alveolos tras la extracción de un diente y analizar los cambios dimensionales lineares de las crestas alveolares en sentido vertical y horizontal (estudio 2) y iii) comparar los resultados histométricos e histológicos e los implantes post extracción y de los alveolos adyacentes en las fases temprana de cicatrización. (estudio 3).

Para el primer objetivo se ha diseñado un estudio preclínico en el que se han colocados en los alveolos distales de lo premolares mandibulares implantes post extracción y los alveolos mesiales se han dejado cicatrizar espontáneamente. Combinando los datos presente en literatura con los datos obtenidos en la presente investigación, se puede concluir que la colocación de un implante colocado inmediatamente tras la extracción de un diente, no solo no impide el remodelado óseo, sino que mas bien puede, en circunstancias especificas,

augmentar la cantidad de reabsorción vertical. Para cumplir con el segundo objetivo se ha diseñado un estudio a 8 semanas de cicatrización donde los alveolos mesiales de los premolares mandibulares, tras la extracción de los dientes, fueron analizados histométricamente e histomorfométricamente desde las fases precoces de cicatrización (4 horas). Los resultados obtenidos evidencian como las corticales de la cresta (vestibular y lingual) sufren un remodelado en sentido vertical y que la cortical vestibular además muestra los signos más marcados de esta reabsorción, tanto en sentido vertical como en sentido horizontal (anchura de la cresta).

En último lugar, con el tercer estudio, se ha comparado la cicatrización espontánea de los alveolos con implantes post extracción colocados en alveolos adyacentes desde un tiempo precoz de cicatrización (4 horas). Los cambios dimensionales en sentido vertical resultaron más marcados en caso de implantes inmediatos, y también el remodelado horizontal de las crestas fue tendencialmente mayor en el grupo test (implante inmediato).

Tras el análisis de los tres estudios y considerando las limitaciones intrínsecas al modelo experimental elegido, se puede concluir que tras la extracción de los dientes la cresta ósea sufre marcados cambios dimensionales, que resultan más acentuados en caso de colocación inmediata de un implante.

**PALABRAS CLAVES:** alveolo post extracción, implante inmediato, cicatrización, análisis histométricos, modelo preclínico.

### III INTRODUCCIÓN

#### 1. Biología del tejido óseo. Modelado y Remodelado

##### 1.1 Composición

El tejido óseo es un tipo de tejido conectivo especializado caracterizado por presentar una matriz extracelular mineralizada que le confiere rigidez y fuerza, al tiempo que conserva cierta elasticidad. El tejido óseo participa activamente en el mantenimiento de la homeostasis del calcio en el organismo (Marks & Hermey, 1996).

El tejido óseo está compuesto por una matriz orgánica mineralizada, células y canales vasculares. La matriz orgánica constituye el 33% del peso del hueso y esta compuesta principalmente en un 95% de colágeno de tipo-I y un 5% de proteoglicanos y proteínas no colágenas (sialoproteínas, osteocalcina, osteonectina) (Marks & Hermey, 1996; Cate et al., 1998). Además de esta matriz orgánica mineralizada, el hueso contiene cuatro tipos de células: osteoblastos, osteoclastos, células de revestimiento (que se encuentran en la superficie del hueso) y un cuarto tipo celular que son los osteocitos que encontramos incluidos en la matriz mineralizada. Los osteoblastos, osteocitos y las células de revestimiento se originan a partir de las células osteoprogenitoras localizadas en una membrana que se encuentra alrededor del hueso, denominada periostio o endostio, con propiedades ontogénicas mientras que los osteoclastos derivan de precursores mononucleares hematopoyéticos (Marks & Hermey, 1996; Recker et al. 1996).

Durante el crecimiento del hueso los osteoblastos sintetizan fibras colágenas y proteínas no colágenas que constituyen la matriz ósea no mineralizada denominada osteoide. Posteriormente este mismo grupo celular lleva a cabo la mineralización de la matriz dando como resultado una lamela de nuevo hueso. El crecimiento del hueso es aposicional mediante superposición de nuevas lamelas de hueso mediante, a diferencia del crecimiento intersticial que tiene lugar en los tejidos blandos. Este tipo de crecimiento aposicional depende de una membrana vascular con capacidad osteógena que tapiza la superficie externa e interna del hueso (denominada periostio y endostio, respectivamente) y que

contienen las células osteoprogenitoras y los osteoblastos (de origen mesenquimático) que son los responsables de la formación de hueso.

A medida que los osteoblastos van sintetizando osteoide se cubren con su propia secreción y quedan atrapados en la matriz ósea, ocupando un espacio denominado laguna osteocítica, donde se diferencian en osteocitos. Cuando los osteoblastos que se encuentran en la membrana detienen la formación de hueso se vuelven inactivos (quiescentes) y se transforman en células alargadas y aplanadas que reciben el nombre de células de revestimiento. Estas células, que conservan características de los osteoblastos como receptores hormonales (Martin 2000), se localizan en la superficies que no sufren ni formación ni reabsorción ósea. No se conoce mucho sobre la función de este grupo celular pero se cree que podrían actuar como sensores de la tensión mecánica o que pudieran jugar un papel clave en la localización e inicio del proceso de crecimiento óseo (Martin 2000).

Los osteoblastos los osteocitos y las células de revestimiento están conectados entre si por medio de procesos que discurren por pequeños canales (canaliculi) de 0,03-0,02mm de diámetro (Rho et al. 2002), y que constituye una red tridimensional con funciones de sensibilidad mecánica (Burger & Klein-Nulend 1999).

Además de la formación de hueso , durante el crecimiento, también se produce la actividad de reabsorción ósea llevada a cabo por los osteoclastos . Este tipo de células deriva de monocitos de la medula ósea y se caracterizan por ser multinucleadas y de gran tamaño (100-150  $\mu\text{m}$ )(Rho et al. 2002). Para llevar a cabo la reabsorción de hueso, los osteoclastos se adhieren a la superficie ósea no cubierta por el periostio o endostio por un borde festoneado y liberan enzimas lisosomales generando un microambiente ácido que disuelve los cristales minerales y posteriormente la matriz orgánica es eliminada por medio de la enzima colagenasa (Martin 2000). Como consecuencia de la reabsorción ósea se producen una concavidades de distinto tamaño y forma en la superficie del hueso que se denominan lagunas de Howship. La variabilidad en la forma de estas lagunas se debe a la capacidad que tienen los osteoclastos de emitir pseudópodos, cada uno de los cuales actúa como una unidad funcional (Boyde 2012).

## 1.2 Desarrollo del hueso

La relación entre las actividades de los osteoblastos (formación de hueso) y los osteoclastos (reabsorción de hueso) varía a lo largo de la vida del organismo, lo que nos permite diferenciar tres procesos durante el desarrollo del esqueleto: osificación, modelado y remodelado óseo.

### 1.2.1 Osificación

La cicatrización del tejido óseo y la habilidad de restaurar su forma y función involucra diferentes eventos biológicos bien organizados. Algunos factores sistémicos participan activamente al recambio óseo regulando el metabolismo óseo y el reclutamiento, la diferenciación y la función de las células a través de mediadores locales (Chao and Inoue, 2003). La mineralización del tejido óseo puede seguir tres diferentes procesos: osificación endocondral, transcondral o intramembranosa. Normalmente la osificación endocondral se observa en los huesos largos (Ignatius et al., 2011) y durante el desarrollo embriológico (Yasui et al., 1997, Grimes et al., 2011); la osificación transcondral produce hueso condroide que puede considerarse como el tejido intermedio entre el cartílago y el tejido óseo (Scammell & roach 1996, Yasui et al., 1997) y finalmente la osificación intramembranosa se caracteriza por la producción directa de hueso por parte de osteoblastos diferenciados sin la deposición previa de cartílago (Amir et al., 2006). Investigaciones recientes han demostrado que existe una relación íntima entre la angiogénesis y la osteogénesis en la cicatrización de los huesos largos para obtener tejido biológicamente funcional (Brandi and Collin-Osdoby, 2006, Lienau et al., 2009, Alt et al., 2011, Qu et al., 2011, Hankenson et al., 2011). La osificación está siempre acompañada por la proliferación de nuevos capilares, lo que se asegura la continuidad de la homeostasis de oxígeno y de mediadores biológicos (Hermeijer et al., 1996, Lienau et al., 2009). Las células endoteliales involucradas en la angiogénesis participan en la construcción de una red microvascular y contribuyen además expresando moléculas de adhesión para osteoblastos (Peters et al., 2003).

La osificación intramembranosa se produce por la condensación de las células mesenquimatosas en áreas específicas del tejido conectivo embrionario donde se formará el hueso. En dichos lugares primero comienza a aumentar la vascularización y las células mesenquimatosas se transforman en osteoblastos, que empiezan la formación de osteoide (Cate et al 1998). Los huesos formados a través de este proceso se denominan huesos de

membrana o intramembranosos, que corresponden a los huesos del cráneo, de la cara, mandíbula y clavícula (Marks & Hermey 1996). La osificación endocondral también se inicia con una condensación de las células mesenquimatosas en el sitio donde se desarrollará el futuro hueso. Sin embargo, estas células se diferencian en condroblastos que producen una matriz cartilaginosa que adquiere la forma general del futuro hueso. La osificación endocondral es responsable de la formación de los huesos largos, las vertebras, costillas y la base del cráneo.

A pesar de su diferente proceso de osificación, los huesos endocondrales e intramembranosos no difieren histológicamente (Cate et al 1998).

### 1.2.2 Osificación del hueso alveolar y papel de la Matriz Provisional (MP)

En contraste con la osificación endocondral, que ocurre primariamente durante la cicatrización de las fracturas, estudios histológicos han evidenciado que la cicatrización del hueso alveolar consiste en una osificación de tipo intramembranoso (Nakata et al., 2002, Kanyama et al., 2003). La cicatrización del hueso alveolar tras la extracción dentaria ha sido estudiada en distintas investigaciones en humanos (Ahn and Shin, 2008, Trombelli et al., 2008, Heberer et al., 2011), sin embargo, no hay mucha informaciones sobre el papel que juega la vascularización durante el proceso de cicatrización del alveolo, ni sobre la interacción entre angiogénesis y osteogénesis de la matriz provisional. Con el termino *Matriz Provisional* (MP) se define el tejido de nueva formación caracterizado por la presencia de células mesenquimales embebidas en una matriz fibrosa. Estas células mesenquimales tienen la capacidad de diferenciarse en osteoblastos, adipocitos o condrocitos (Pittenger et al., 1999). Estudios inmunohistoquímicos han identificados algunos factores de transcripción que ayudan a determinar el grado de maduración de los osteoblastos o sus precursores (Ducy, 2000, Jeon et al., 2003). En un reciente estudio evaluando los procesos de vascularización de la matriz provisional en alveolos tras la extracción de un diente (Nahles et al., 2013), se han analizado en biopsias a las 4 y 12 semanas de cicatrización tres antígenos monoclonales: CbFa1/Runx2, Osteocalcina, y el CD31 (Karsenty, 2000). CbFa1/Runx2 marcan genes específicos cuya expresión indica el grado de diferenciación del osteoblasto (Ducy, 2000, Teplyuk et al., 2009). La osteocalcina (OC) es una proteína de la matriz extracelular sintetizada por los osteoblastos maduros que

se une a los iones  $Ca^{2+}$  e indica el nivel de mineralización de la matriz ósea. La expresión del CD31 indica el nivel de vascularización de un tejido ya que este receptor de superficie se localiza en la membrana plasmática de todas las células endoteliales y esta expresado tanto por células endoteliales como por plaquetas (Scholz and Schaper, 1997). Los resultados del estudio demuestran que la mitad de las células presente en la matriz provisional tienen un alto potencial osteogénico, independientemente de su localización en el alveolo (apical/tercio medio/coronal). Este potencial ya es evidente a las 4 semanas de cicatrización, y se mantiene hasta los 3 meses de cicatrización. A las 4 semanas el 20% de las células en el tercio apical del alveolo son reactivas para la OC. A las 12 semanas el porcentaje de células positivas (Osteoblastos maduros) alcanza el 50%, y la mayoría de las células positivas se encuentran en el tercio coronal. Según estos datos el pico de osteoblastos maduros se alcanzaría a las 4 semanas y tras este periodo los osteoblastos perderían su actividad, y se diferenciarían en células de revestimiento. Estas últimas están involucradas en la homeostasis de la formación ósea y juegan un papel central en el *Compartimento de Remodelado Óseo* (CRO). La positividad de las células CD31 fue máxima a las 4 semanas en la zona apical, confirmando la hipótesis que entre angiogénesis y osteogénesis hay una fuerte correlación biológica.

Heberer y colaboradores (Heberer et al., 2011) evaluaron el potencial osteogénico de la matriz provisional en humanos con un único tiempo de cicatrización a 6 semanas. Además de la expresión de Cbfa1 y de OC, se analizó también osteonectina (OSN), que es una proteína involucrada en el remodelado extracelular de la matriz y que tiene la capacidad de unirse a las moléculas de colágeno y participa a la angiogénesis y a la proliferación celular.

La OSN se expresa en la superficies de las células que evolucionan del estado de osteoprogenitoras maduras al estado de osteoblastos maduros (Baldini et al., 2008). Los resultados obtenidos confirman que la matriz provisional posee un elevado potencial osteogénico, de hecho el 70% de las células presentaron inmuno-reactividad al Cbfa1/runx2 y la mitad resultaron positivas a la OSN. A 6 semanas de cicatrización, solo un tercio de las células eran positivas a la OC. Esto significa que en la matriz provisional a seis semanas solo un tercio de las células se pueden considerar osteoblastos maduros. Igualmente describen que en todas las muestras disponibles estaban presente una gran cantidad de capilares, evidenciando la importancia del proceso de revascularización por angiogénesis en la formación del tejido óseo. Estos hallazgos sugieren que los capilares infiltrados son

responsables del transporte de células y nutrientes involucrados en la formación de tejido osteoide y que las células osteoprogenitoras pasan a través de los capilares para alcanzar los tejidos .

### 1.3 Modelado y remodelado óseo

Después de la osificación, el hueso crece cambiando su forma y tamaño durante el desarrollo del organismo. Sin embargo, el hueso no crece isométricamente; es decir no crece por deposición ósea en la superficie externa y reabsorción en la superficie interna. El hueso presenta un crecimiento diferencial donde el aumento de tamaño ocurre por medio de un mecanismo que implica la actividad coordinada de los osteoblastos y osteoclastos en diferentes puntos del hueso (Enlow & Hans 1996) y donde la deposición de hueso necesariamente excede a la reabsorción de hueso (Martin 2000).

En 1987, H.M Frost propuso la *teoría mecano-estática* distinguiendo entre los procesos de modelado y remodelado óseo. Según este autor el mecanismo de modelado óseo implica las actividades coordinadas de los osteoblastos y osteoclastos pero desajustadas resultando en su cambio de tamaño y de forma. Por el contrario , la remodelación ósea describe la actividad coordinada y acoplada de los dos tipos de células y tiene lugar a lo largo de la vida del organismo para mantener y reparar los huesos formados (Martin 2000).

#### Modelado óseo:

Durante la niñez y la adolescencia los huesos crecen por crecimiento diferencial mediante un proceso de modelado óseo que consiste en la actividad coordinada de osteoblastos y osteoclastos que depositan y eliminan hueso respectivamente (Seeman 2003). Estas actividades celulares ocurren en distintos puntos dentro del mismo hueso y donde la deposición de hueso excede a la reabsorción de hueso, ya que la actividad de los osteoblastos y osteoclastos esta temporal y espacialmente relacionada, pero esta desacoplada en el sentido que no son iguales (Marks & Hermey 1996). Como consecuencia del proceso de modelado óseo, la superficie externa e interna (periostio e endostio, respectivamente) expresan una serie de micro-características relacionadas con las actividades de formación y reabsorción ósea. Las áreas relacionadas con la formación ósea se caracterizan por a presencia de las fibras de colágeno mineralizadas, mientras que las áreas de reabsorción presentan lagunas de Howship. Su identificación mediante técnicas

microscópicas nos permite observar la distribución de estos campos de actividad celular, que en su conjunto se conocen como patrones de modelado óseo. De este modo, las variaciones en la forma de hueso pueden entenderse como las variaciones en la distribución de los campos de remodelado, en las tasas relativas de actividad celular y en los momentos de inicio y duración de la actividad (Martin 2000).

#### Remodelado óseo:

Una vez que se alcanza la madurez del esqueleto el proceso de modelado óseo se reduce considerablemente. En un individuo adulto se pueden observar procesos de modelado óseo pero solo en procesos de cicatrización tras enfermedades o traumas o en el caso de que las condiciones biomecánicas hayan cambiado radicalmente (Robling & Stout, 2000). Durante el periodo adulto, sin embargo, se requiere un mantenimiento del esqueleto que implica una reorganización interna del hueso mediante el proceso denominado remodelación (Martin 2000). El mantenimiento del esqueleto adulto implica la reparación de fracturas, prevención de acúmulo excesivo de hueso viejo, que estructuralmente es más frágil, mantenimiento de la homeostasis del calcio y fósforo, y adaptación de la arquitectura interna del hueso a la variación de carga en biomecánica. La remodelación ósea supone la reabsorción de hueso en una superficie particular, seguido de una fase de formación ósea. En adultos no patológicos hay un equilibrio entre la calidad de hueso reabsorbido por los osteoclastos y la cantidad de hueso formado por los osteoblastos. De este modo, y a diferencia del proceso de modelado óseo, se requiere la actividad coordinada y acoplada de osteoclastos y osteoblastos.

Estos dos grupos celulares constituyen un conjunto denominado Unidad Básica Multicelular, conocida bajo el acrónimo BMU, que está formada por un número aproximado de 10 osteoclastos y centenares de osteoblastos (Frost et al .1996). El proceso de remodelación implica una secuencia de activación, reabsorción y formación en un punto determinado del hueso. La activación tiene lugar con el reclutamiento de los osteoclastos que comienzan la reabsorción de la matriz ósea dando lugar a un cilindro o túnel intracortical de 200 micras de diámetro aproximadamente (Martins et al 1998). El término de la reabsorción ósea y el inicio de la formación ósea en la laguna de reabsorción recién formada se produce a través de un mecanismo de acoplamiento. Posteriormente los osteoblastos tapizan las paredes del túnel excavado y comienzan la formación de lamelas concéntricas hacia el interior del túnel dejando un canal central de unos 40-50 micras de diámetro que contiene los vasos

sanguíneos (Martins et al 1998). Como resultado se obtiene una osteona secundaria en cuyo centro se encuentra el canal de Havers, también conocida como unidad básica estructural (BSU). La naturaleza de la activación de los osteoclastos y el mecanismo de acoplamiento no se conoce muy bien, aunque se cree que puedan estar relacionados algunos factores de crecimiento como TGF (Transforming Growth Factors) e IGF's I y II (Insuline Like Growth Factors).

#### 1.4 Modelado y Remodelado del Hueso Alveolar

El hueso alveolar una vez formado es un tejido mineralizado que comienza a ser reformado y renovado por procesos de reabsorción y de aposición, es decir, mediante modelado y remodelado que ocurren durante toda la vida y permiten la adaptación a las demandas externas e internas.

Los alveolos dentales son un elemento estructural que no está nunca estable, ya que los dientes migran para compensar la atrición dentaria y para hacer frente a este movimiento, el hueso alveolar va a sufrir en un lado proceso de reabsorción, mientras que en el lado opuesto se producirá aposición ósea. Esta deformación es bastante similar al proceso fisiológico de modelado óseo (Saffar et al. 1997). El hueso alveolar es un tejido sensible a las fuerzas que generan presión, las cuales provocan reabsorción de la matriz y las fuerzas que generan tensión, las cuales estimulan la producción de nuevo tejido óseo.

El remodelado óseo alveolar se traduce como un cambio que ocurre en el hueso alveolar mineralizado sin una alteración de la arquitectura del tejido. El proceso de remodelado alveolar es importante durante la formación de hueso alveolar ya que posibilita la sustitución del hueso alveolar primario o reticular por hueso alveolar nuevo, con mejor capacidad para soportar las cargas biomecánicas.

## **2. Cicatrización de los alveolos tras la extracción de un diente**

Los acontecimientos biológicos que ocurren tras la extracción de un diente pueden dividirse, por razones didácticas, en dos grupos :

- a. Procesos intra-alveolares (acontecen en el interior del alveolo)

- b. Procesos extra-alveolares (acontecen a lo largo de las corticales vestibulares y linguales /palatinas del alveolo)

### *2.1 Procesos intra-alveolares*

Las primeras descripciones que aparecen en la literatura son las del estudio de Amler y cols. (Amler 1969) (Tabla 1.). Este estudio describe la secuencia de eventos que acontecía tras la extracción de un diente unitario en el interior del alveolo desde el día 2 hasta el día 50, excluyendo las biopsias el tejido de las crestas óseas. Este aspecto técnico permitía a los autores analizar muestras no-descalcificadas y por lo tanto, poder aplicar distintas técnicas histológicas. A los dos días de la extracción los autores describen la presencia de fibrina (organizada en haces concéntricos) con una gran cantidad de eritrocitos atrapados en su interior. A partir del día 4, el complejo fibrina-eritrocitos seguía siendo visible en las biopsias, pero se podía notar una parcial infiltración de tejido de granulación. A los días 8-10 el tejido de granulación constituía la mayor parte del contenido del alvéolo; el tercio apical y las porciones laterales reaccionaban positivamente a la tinción por ácidos polisacáridos, lo que indicaba la presencia de tejido conectivo inmaduro. Tras tres semanas de cicatrización el contenido del alveolo se caracterizaba por la presencia de tejido mineralizado. Este tejido empezaba su formación a partir de una matriz colágena definida por una intensa reacción meta-cromática (presencia de ácidos polisacáridos). A medida que el proceso de mineralización aumentaba, la cantidad de polisacáridos disminuía y aumentaba la cantidad de glicoproteínas. La proliferación epitelial empezó a ser evidente desde el día 12, aunque tras un mes de cicatrización (32 días), el cierre epitelial del alveolo todavía no estaba completado. Este estudio emplea diferentes tinciones (Mallory, test de Bielchowsky, PAS, Von Kossa) lo que permitió por primera vez de distinguir el tejido de granulación del tejido conectivo. A la hora de estudiar la maduración del tejido óseo, la presencia de una glicoproteína evidenciada por el test PAS (Periodic Acid Schiff) indicaba la maduración del tejido osteoide. La tinción de Von Kossa, permitió de identificar además el grado de mineralización del tejido óseo, algo imposible solo con la tinción de Hematoxilina y Eosina.

Animal experimental	Autor	Año	Proliferación Epitelial (Días)	Cierre Epitelial(Días)	Organización del Coágulo(Días)	Comienzo de la Formación de tejido óseo (Días)	Formación Completa de tejido óseo (Días)
Rata	Huebsch et al.	1952		10-14	3	5	
	Smith et al.	1958	1	14			
	Average et al.		1	13	3	5	
Perro	Euler et al.	1923				8	
	Meyer et al.	1924				8	
	Schram et al.	1929		8		8	
	Claffin et al.	1936	3	7	3	5	31
	Hubbel et al.	1941		3-7	3-4	4-5	
	Versnel et al.	1953	4	9	11		22
	Average		3,5	7,1	5,8	7,9	26,5
Oveja	Harrison et al.	1943			12	6	
Mono	Simpson et al.	1958	7			7	28
	Radden et al.	1959	3			6-7	27
	Average et al.		5		15,5	12	27,5
Humano	Mangos et al.	1941		14-21	3	10	
	Christopher et al.	1942				14	
	Average et al.			17,5	3	12	
	Amler et al.	1969	4	22	7-20	7	35
	Deebach et al.	1935		17			

Tabla 1: Resumen de los estudios históricos que analizan al cicatrización de los alveolos.

Considerando los resultados de este estudio histórico la secuencia de acontecimientos biológicos que ocurren en el alveolo tras la extracción de un diente se puede resumir en:

1. Formación del coágulo: día 0 (el mismo día de la extracción)
2. Sustitución del coágulo por tejido de granulación: día 7
3. Sustitución del tejido de granulación por tejido conectivo: día 20
4. Presencia de tejido osteoide en el fondo del alveolo: día 7

5. Relleno de al menos dos tercios del alveolo con trabéculas de tejido mineralizado: día 38
6. Primera evidencia de epitelización : día 4
7. Fusión del epitelio: día 24 hasta 35.

Una limitación que hay que tener en cuenta a la hora de interpretar los resultados de este estudio es que sólo se analizaron histológicamente las porciones centrales del alveolo; sin analizarse las porciones marginales y apicales. Para paliar estas limitaciones Cardaropoli y colaboradores (Cardaropoli et al. 2003) han publicado recientemente un estudio experimental en perros donde han analizado los acontecimientos biológicos tras la extracción de un diente en los tres compartimentos alveolares: apical, central y coronal. Se utilizaron muestras de-mineralizadas con un tiempo final de cicatrización de 6 meses.

En un total de 9 perros se analizaron nueve tiempos de cicatrización: 1, 3, 7, 14, 30, 60, 90, 120 y 180 días. Tres secciones centrales por cada alveolo se descalcificaron y se incluyeron en parafina. El espesor medio de cada muestra fue de 7 micras y se tiñeron con Hematoxilina y Eosina y con tinción de Van Gieson. En el primer día de cicatrización el espacio ocupado por la raíz del premolar extraído, se ve ocupado en gran parte por coágulo, formado por eritrocitos y plaquetas atrapadas en una malla de fibrina. La parte marginal de este tejido evidencia una capa de tejido de inflamación, principalmente constituido por granulocitos neutrófilos. Lateralmente a la pared interna del alveolo, constituida en su porción coronal principalmente por hueso fasciculado (HF) se puede observar la presencia de fibras del ligamento periodontal (Fibras de Sharpey, FS) rodeadas por células mesenquimales y vasos sanguíneos de diámetro aumentado. Las Fibras de Sharpey en la porción central del alvéolo se encuentran en íntimo contacto con el coágulo. En el día 3 la zonas marginales del coágulo están remplazadas por Tejido de Granulación (TG) altamente vascularizado. Se pueden apreciar áreas de apariencia hialina, donde las membranas de los eritrocitos han perdido su integridad a causa de un proceso de lisis (necrosis coagulativa).

Al día 7 de cicatrización el número de fibras del ligamento periodontal se ha reducido progresivamente. Las fibras que todavía siguen en la “unidad experimental” (interior del alveolo) están embebidas en una “matriz conectiva” que ha sustituido parcialmente las fibras y el tejido de granulación (TG) previamente presentes. Este tejido se caracteriza por la presencia de nuevos vasos, células mesenquimales inmaduras y varios tipos de leucocitos y

fibras colágenas. Las áreas de necrosis coagulativa aumentan en número. Células multinucleadas gigantes (osteoclastos) recubren porciones del tejido óseo fasciculado y de la cara interna de la pared del alveolo en proximidad de los canales de Volkmann. Esta característica sugiere que el proceso de remodelado óseo ha empezado.

A los 14 días la porción marginal del alveolo está ocupada por tejido conectivo caracterizado por una gran cantidad de vasos y células inflamatorias; parte de este tejido está recubierto por células epiteliales. Lo que caracteriza más este período de cicatrización según los autores (Cardaropoli et al. 2003) es i) una aumentada cantidad de nuevo tejido óseo y ii) ausencia del ligamento periodontal. La mayoría del hueso fasciculado (HF) se ha completamente reabsorbido y se puede observar un contacto directo entre los espacios medulares del septo interdental y el tejido de nueva formación internamente al alveolo.

El hueso inmaduro (HI) se extiende desde el tejido óseo basal de las paredes internas del alveolo hacia el interior del mismo. Este tejido está caracterizado por una gran cantidad de células, fibras colágenas y escasa cantidad de tejido mineralizado. El HI empieza su formación alrededor de vasos sanguíneos neo formados. A los 14 días se puede apreciar todavía una elevada cantidad de tejido conectivo provisional.

Al mes de cicatrización (30 días), la zona marginal de tejido blando presentaba un tejido conectivo con elevado número de fibras bien organizadas, recubierto por epitelio queratinizado. Gran parte del alveolo contiene tejido óseo de nueva formación, con una elevada cantidad de Osteonas Primarias (OP) en íntima relación con el antiguo tejido óseo del alveolo. El tejido óseo inmaduro ya presenta signos de reabsorción osteoclastica. Esta peculiaridad sugiere que el proceso de modelado y remodelado ya ha empezado. Los autores observan la presencia de osteoclastos también en el tejido óseo laminar de la región más coronal de las paredes del alveolo.

A los 60 días y 90 días de cicatrización los alveolos presentaban un puente óseo parcialmente mineralizado (HI) que separaba el alveolo de la mucosa alveolar. El tejido óseo inmaduro (HI) se había remplazado por tejido óseo esponjoso (HE), caracterizado por vasos sanguíneos, adipocitos y células inflamatorias. En las muestras de 3 meses (90 días) parte del HI se ha sustituido con tejido óseo laminar (HL). A los 4 y 6 meses, el puente óseo

presentaba una completa mineralización, con residuos escasos de HI y una estructura definida por HL. El contenido del alveolo se caracterizaba por HE con presencia de espacios medulares.

En una reciente publicación se ha analizado la cicatrización del alveolo en un modelo experimental con monos (*Cebus Apella*) (Scala et al. 2014). Estos autores han evaluado la cicatrización espontánea del alveolo correspondiente al tercer premolar mandibular desde los cuatro días hasta los 6 meses. Los cortes se incluyeron en parafina según un plano mesio-distal y se tiñeron con Hematoxilina y Eosina. En este estudio se confirmaron las observaciones descritas por Cardaropoli y cols. (Cardaropoli et al. 2003). A los 4 días todos los alveolos estaban ocupados por un coágulo e infiltrado inflamatorio. El HF residual, que todavía seguía presente en el 95% del perímetro interno del alveolo, estaba atravesado por Fibras de Sharpey (FS). Los 10 días de cicatrización se caracterizaban por hueso inmaduro proveniente desde la paredes del alveolo. Este tejido estaba mas representado a nivel del tercio apical y de la zona periférica del alveolo. El porcentaje de HF se redujo al 83%, y los procesos de remodelado (reabsorción osteoclastica) fueron mas marcados tanto en la porción interna cuanto en la porción externa del alveolo. A los 20 días de cicatrización el interior del alveolo se encontraban neoformación de vasos sanguíneos. El tejido óseo inmaduro (HI) seguía un esquema de formación centrípeta, desde la periferia del alveolo hacia el centro. En el tercio coronal se apreciaba todavía *matriz provisional* y el porcentaje de HF alcanzaba el 65% del perímetro del alveolo. Al mes de cicatrización todas las muestras presentaban un puente óseo entre la cresta mesial y la cresta distal del alveolo. La porción central y apical del alveolo estaba ocupada por medula ósea primaria entrapada en hueso laminar. La cantidad de HF no cambiaba en comparación con el periodo de cicatrización previo. A los 90 y 180 días resultaba difícil reconocer el perfil original del alveolo. En esta fase de cicatrización el proceso de puenteo (“bridging”) resultaba completo. La medula ósea madura ocupaba la parte central y apical del alveolo, con células hematopoyéticas que se podían identificar en el interior de la zona apical. La cantidad de HF resultaba inferior al 10% (10-7%).

## 2.2 Procesos intra-alveolares: estudios clínicos

Recientemente Trombelli y cols. (Trombelli et al., 2008) analizaron biopsias humanas de 24 pacientes con el fin de evaluar la dinámica tisular de los alveolos tras la extracción. Se

analizaron tres distintos periodos de cicatrización: 2-4 semanas (cicatrización temprana), 6-8 semanas (cicatrización intermedia) y 12-24 semanas (cicatrización tardía). El estudio demostró que en todas las muestras analizadas, el contenido de los alveolos en las primeras semanas de cicatrización presentaba una matriz provisional conectiva. Sin embargo se observó una alta variabilidad en el porcentaje de hueso mineralizado.

*-Tejido de granulación (TG):* En la fase temprana el 40% de las muestras presentaban tejido de granulación. Este tejido (altamente vascularizado y rico de infiltrado celular) ocupaba entre el 67 y el 100% del espacio del alveolo. La media general de volumen ocupado por el TG en las 10 muestras era del 36% ( $\pm$  47%). Este tejido estaba presente en el 15% de las muestras pertenecientes al grupo de la cicatrización intermedia y en ninguna muestra de la fase tardía.

*-Matriz provisional:* este tejido (caracterizado por células mesenquimales, fibras colágenas y vasos) se pudo identificar en el 70% de las muestras de la fase temprana, con un volumen medio en el alveolo del 57,2% ( $\pm$  44%). En las muestras correspondientes a la fase intermedia este valor alcanzaba el 62% ( $\pm$  24%) mientras que en el ultimo periodo las muestras presentaban un 58% ( $\pm$  24%) de este tejido.

*-Hueso inmaduro y lamelar:* las muestras en el intervalo temprano de cicatrización presentaban hueso de tipo inmaduro en un porcentaje medio del 7% ( $\pm$  10%). En las fases siguientes de cicatrización el porcentaje de tejido mineralizado aumentaba, hasta alcanzar un valor del 34% ( $\pm$  24%) y 32% ( $\pm$  18%) a las 6-8 semanas y 12-24 semanas respectivamente. Hueso lamelar junto a medula ósea se pudo observar solamente en una muestra en el intervalo entre las 12-24 semanas. El análisis inmunohistoquímico efectuado, demostró que la mayor cantidad de células positivas para la OC (osteocalcina) y de BMP-7 (Proteína morfogenética del hueso-7) pudieron observarse en la fase intermedia de cicatrización (6-8 semanas). Estos resultados obtenidos apoyan las conclusiones descritas en los estudios experimentales antes revisados y confirman que la regeneración del hueso alveolar posee muchas características en común con la formación de hueso de tipo intramembranoso (Trombelli et al., 2008, Nakata et al., 2002, Kanyama et al., 2003).

Cabe la pena destacar algunas características descritas en este estudio : i) la elevada variabilidad de los resultados entre sujeto y sujeto (elevada desviación estándar) ii) la sustitución completa de hueso inmaduro con hueso lamelar y medula ósea (remodelado) en

un proceso muy lento (solamente una muestra sobre 11 del periodo 12-24 presentaba una fase de remodelado avanzada). iii) la densidad de las estructuras vasculares alcanza su máxima expresión a las 6-8 semanas para luego decrecer. iv) los osteoclastos estaban presentes en muy pocas muestras a lo largo de todo el periodo de observación.

El papel de las células del ligamento periodontal en las fases de cicatrización del alveolo tras la extracción de un diente están bien documentadas, y confirman que los fibroblastos del ligamento periodontal migran, tras la extracción hacía el coagulo y pueden diferenciarse en osteoblastos (Lin et al., 1994). Ahn & Shin (Ahn and Shin, 2008) han evaluado la cicatrización de alveolos tras la extracción de un diente en sujetos con o sin enfermedad periodontal para evaluar en una situación clínica el papel del ligamento periodontal. El tiempo de cicatrización analizado fue de 2 a 42 semanas y las muestras se circunscribían a premolares y molares mandibulares y maxilares. En el intervalo de tiempo entre la semanas 5-10, en el grupo sin enfermedad periodontal (grupo control), la cantidad de hueso de nueva formación representaba el 52% de todo el tejido presente. Contrariamente en el grupo test (con enfermedad periodontal) el tejido óseo alcanzaba solo el 31%. Esta tendencia se perpetraba también en el intervalo entre las semanas 11-20, en las cuales el porcentaje de tejido óseo de nueva formación era el 70% y el 52% en el grupo control y test respectivamente. En el ultimo periodo de evaluación (21-42 semanas) el porcentaje de tejido mineralizado todavía seguía siendo superior en el grupo test (control= 56%; test= 66%).

Estos resultados avalan la hipótesis que la cicatrización de los alveolos pertenecientes al grupo con enfermedad periodontal (test) resulta mas lenta y menos predecible en términos de cantidad de hueso mineralizado neo-formado en comparación al grupo control (alveolos sin enfermedad periodontal).

### *2.3 Proceso extra alveolares: estudios pre-clínicos*

Uno de los primeros trabajos de investigación que ha estudiado detenidamente los cambios dimensionales tras la extracción de uno o mas dientes fue diseñado por la escuela de Gotemburgo, y consistía en un modelo experimental llevado a cabo en el perro *Beagle* (Araujo and Lindhe, 2005). El principal objetivo de este estudio fue lo de estudiar los cambios dimensionales que ocurren a la cresta ósea tras la extracción de un diente. El

modelo experimental consistió en una muestra de 12 perros a los que se extrajeron ,tras hemisección, las raíces distales del tercer y cuarto premolar mandibular (3P3 y 4P4). Se evaluaron las muestras tras un tiempo de espera de 1, 2, 4 y 8 semanas. Se midieron de forma lineal los siguientes parámetros: i) la distancia entre la cortical lingual y vestibular , según el eje largo del alveolo y ii) el cambio de anchura de las tablas vestibulares y linguales a 1, 3 y 5 mm del punto mas coronal de la cresta vestibular y lingual.

Lo que se demostró en este estudio fue la expresión de una marcada actividad osteoclastica que produjo una intensa reabsorción en la pared vestibular y en medida menor en la pared lingual de las crestas alveolares. A una semana de cicatrización la cresta vestibular se encontraba  $0,3 \pm 0,2$  mm mas coronal que la cresta lingual, mientras que a las 8 semanas la diferencia entre cresta lingual y cresta vestibular fue de  $1,9 \pm 0,2$  mm, con la cortical vestibular localizada en posición mas apical. La cresta lingual en basal (1 semana) resultaba mas ancha en comparación a la cortical vestibular y a lo largo del estudio la mayor reabsorción horizontal se observo a cargo de la cortical vestibular.

Se describieron también las fases de cicatrización de las crestas óseas del alveolo que se pueden resumir, concorde al periodo de cicatrización, en los siguientes procesos o fases:

1. A la semana, ambas crestas contenían un elevado numero de espacios medulares bien definidos. La pared interna del alveolo estaba compuesta por hueso fasciculado en cuya superficie se podían identificar ocasionalmente células multinucleadas (osteoclastos). La parte mas coronal de las crestas estaba formada exclusivamente por hueso fasciculado (HF), cuya extensión resultaba mayor en el lado vestibular . En la parte externa del alveolo se podían apreciar numerosos osteoclastos.
2. A las dos semanas, el tejido óseo fasciculado había desaparecido completamente en la cresta lingual, mientras que en la cresta vestibular todavía seguía identificable. La porción exterior de la región crestal en el lado vestibular y en el lado lingual estaba recubierta por osteoclastos. La superficie del hueso fasciculado estaba recubierta por osteoblastos y estaba en directa continuidad con trabéculas de hueso recién formado (hueso inmaduro, HI).
3. Al mes de cicatrización el HF ya no estaba presente en las muestras. En la región crestal el hueso cortical fue sustituido parcialmente por hueso inmaduro. El aspecto mas superficial del HI presentaba signos de remodelado óseo. Se podían apreciar un

elevado número de osteoclastos situados en la superficie externa tanto de la cresta vestibular como de la lingual.

4. En la última fase de cicatrización (8 semanas) la pared lingual era más ancha que la pared vestibular. Además la cresta en el lado vestibular estaba situada en una posición 2mm más apical de la cresta lingual. Los alveolos en todas las muestras se caracterizaban por la presencia de un puente óseo que unía las dos corticales a nivel más coronal. Esta estructura estaba formada por hueso lamelar y entretrejido. Se identificaban igualmente osteoclastos a lo largo de la superficie externa de las corticales vestibulares y linguales.

La cantidad de remodelado observada tanto vertical como horizontal, resultó ser superior en el lado vestibular en comparación con el lado lingual. Además al final de periodo de cicatrización (8 semanas) la gran cantidad de osteoclastos presentes sugería que la fase de remodelado no estaba completada.

Los autores reconocen a lo largo del proceso de cicatrización, dos fases distintas:

1. una primera fase donde el hueso fasciculado se reabsorbe y se sustituye con hueso inmaduro
2. una segunda fase que se caracteriza por la reabsorción que ocurre a cargo de la superficie externa de ambas corticales (Araujo and Lindhe, 2005).

Los resultados descritos por Araujo y Lindhe (Araujo and Lindhe, 2005) han sido confirmados en otras publicaciones científicas diseñadas para comparar el papel de la colocación inmediata de un implante en un alveolo tras la extracción de un diente con la cicatrización espontánea del alveolo contralateral (Araujo et al., 2005).

Siguiendo el mismo diseño experimental, se analizó la cicatrización de los alveolos tras 3 meses de cicatrización. La variable respuesta principal fue la medida lineal del remodelado vertical entre la cresta vestibular y la cresta lingual según el eje central del alveolo. Al final del periodo de estudio (único tiempo de cicatrización de 3 meses) la distancia vertical entre porción marginal de la cresta vestibular y lingual resultó ser en media 2,2mm, con la cortical vestibular colocada más apicalmente.

Posteriormente otros estudios experimentales han ratificado estos hallazgos enfatizando que la cresta ósea vestibular sufre un remodelado superior en comparación con la cresta alveolar lingual.

Recientemente se ha valorado la influencia del trauma provocado por la elevación de un colgajo sobre los cambios dimensionales de la cresta durante la cicatrización de los alveolos post-extracción (Fickl et al., 2008, Araujo and Lindhe, 2009, Blanco et al., 2011). En el estudio publicado por Araujo & Lindhe (Araujo and Lindhe, 2009) se evaluó la diferencia de remodelado de las crestas óseas tras la extracción de las raíces distales de los segundo premolares en el perro Beagle. En el grupo test las extracciones se hicieron tras levantar un colgajo mucoperiostico, mientras que en el grupo control se hicieron sin levantarlo (*flapless*). Después de 6 meses de cicatrización no se observaron diferencias estadísticamente significativa en términos de remodelado de cresta entre el grupo test y el control.

De forma parecida los resultados de Blanco y colaboradores (Blanco et al., 2011), obtenidos con un modelo experimental similar (perro Beagle), no encontraron diferencias sustanciales entre el grupo con colgajo y el grupo sin; cabe destacar que el tiempo de cicatrización evaluado en el estudio de Blanco y colaboradores (Blanco et al., 2011) se limitó a 3 meses.

Parcialmente diferentes son los resultados obtenido por Fickl y cols (Fickl et al., 2008).

El hecho de levantar un colgajo supuso un 0,7mm de perdida de volumen adicional en el aspecto coronal de la tabla vestibular con respecto al grupo control, en el que se realizaba la extracción sin levantar el colgajo. Hay que matizar como en este ultimo estudio los autores realizaron un análisis volumétrico obtenidos con modelos de escayola, incluyendo en el análisis tanto tejido duros como blandos. Esta diferencia la hora de medir la variable respuesta principal del estudio, puede haber enmascarado los cambios que ocurren solamente a nivel de la cresta alveolar.

#### *2.4 Cambios externos: estudios clínicos*

Muchos estudios clínicos en humanos han evaluado igualmente los cambios dimensionales de la cresta ósea alveolar que acontecen tras la extracción dentaria. Varios métodos se han empleado para poder describir estos cambios: el análisis cefalométrico (Carlsson et al., 1967, Atwood and Coy, 1971); el uso de modelos de estudio (Johnson, 1969, Iasella et al., 2003, Pietrokovski and Massler, 1967, Lekovic et al., 1997, Schropp et al., 2003, Covani et al., 2011) y medidas directas con re-entrada quirúrgica (Lekovic et al., 1997, Camargo et al., 2000).

Schropp y cols. (Schropp et al., 2003) valoraron a los 3, 6, y 12 meses los cambios dimensionales de la cresta tras la extracción dentaria, mediante radiografía y modelos de estudio. La muestra consistía en 44 pacientes referidos para la extracción de un diente (maxilar y mandíbula) por distintas razones clínicas (enfermedad periodontal, caries avanzada, fracturas). Los cambios se analizaron mediante medidas realizadas sobre modelos y sobre radiografías digitalizadas. Además se realizó un análisis de los cambios de densidad ósea mediante radiografía de sustracción. A los 12 meses de cicatrización, la diferencia media en anchura fue de -6,1mm (12.0-5,9), considerando conjuntamente a molares y premolares. La anchura de la cresta se redujo aproximadamente en un 50% de su valor inicial. Los dos tercios de la pérdida de tejido observada ocurrían durante los primeros 3 meses. El remodelado alveolar, además, producía una reducción de altura de la cresta de 1 mm. El análisis de sustracción utilizado en este estudio, ha demostrado como la actividad de formación ósea en el interior del alveolo y el remodelado crestal acontecen contemporáneamente durante los primeros 3 meses. El proceso de formación ósea continua a lo largo de los 3 meses siguientes y una vez formado este nuevo tejido su remodelado continua a lo largo de todo el periodo experimental (12 meses). Gracias al análisis de sustracción se pudo observar como la pérdida de altura de la cresta ocurría casi exclusivamente durante las primeras 12 semanas, mientras que la reorganización de la "lamina dura" continuaba durante todo el periodo de estudio.

Recientemente se han publicado dos revisiones sistemáticas (Tan et al., 2012, Van der Weijden et al., 2009) sobre los cambios dimensionales de la cresta tras la extracción de un diente. En la revisión de Van der Weijden y colaboradores, fueron incluidos en la búsqueda ensayos clínico controlados y randomizados, ensayos clínicos controlados y series de casos; se utilizaron como variables respuestas tanto medidas clínicas como radiográficas. Un total de 11 estudios con un periodo de evaluación entre los 3 y 12 cumplieron con los criterios de inclusión. Los estudios que midieron el cambio dimensional con el uso de variables clínicas (medida en el punto medio crestal vestibular y lingual) fueron 5 (Barone et al., 2008, Camargo et al., 2000, Iasella et al., 2003, Lekovic et al., 1998, Lekovic et al., 1997, Serino et al., 2003) mientras que los estudios incluidos que utilizaban variables radiográficas fueron 6 (Bragger et al., 1994, Crespi et al., 2009, Fiorellini et al., 2005, Kerr et al., 2008, Saldanha et al., 2006, Schropp et al., 2003). La reducción vertical a nivel vestibular resulto ser -1,67 mm

(IC 95%: -1,910<>-1,428) y a nivel interproximal de -0,64 (IC 95%: -0,699<>-0,585) y la reducción en anchura de la cresta fue de -3,87mm (IC 95%: -4,059<>-3,673). Las medias obtenidas se referían a dientes anteriores (incisivos y caninos) y premolares. La reducción en altura radiográfica resultó ser de -1,53 mm (IC 95%: -1,696<>-1,364). La reducción en anchura fue menos marcada en los estudios radiográfico, con un valor final de 1,21mm, aunque en los estudios radiográficos se incluyeron en el análisis también dientes molares.

En 2012 Tan y colaboradores (Tan et al., 2012) también han analizado en una revisión sistemática los cambios dimensionales de los tejidos duros y blandos del alveolo tras extracción de un diente. Se incluyeron estudios hasta 12 meses de seguimiento y que utilizaran un método de referencia fijo para establecer el cambio dimensional (uso de férula o de pin de titanio en la re-entrada). Se incluyeron finalmente 20 estudios y la reducción media de hueso a los 6 meses fue de  $-3,79 \pm 0,23$  en anchura y  $-1,24 \pm 0,11$  en altura (punto medio vestibular). Los autores calcularon el porcentaje de reducción de la cresta, que fue entre el 11-22% en sentido vertical y entre el 29-63% en sentido horizontal (Tan et al., 2012) en comparación a la medida basal.

La evidencia analizada en estas revisiones confirma los resultados hallados en los estudios experimentales. La cresta alveolar se reduce tanto en sentido vertical cuanto horizontal y es en esta última dimensión que se observan los cambios más marcados. Además las alteraciones dimensionales por gran mayoría se producen en una fase precoz de cicatrización.

### *2.5 Factores influyentes en el proceso de cicatrización.*

La literatura científica propone una serie de variables que pueden influir en la cantidad de remodelado vertical y horizontal de la cresta alveolar, entre las que se encuentran:

i) Sobre-erupción de los dientes vecinos. En un estudio clínico Mizutani y colaboradores (Mizutani and Ishihata, 1976) han evidenciado la influencia de la sobre erupción de los dientes adyacentes en los cambios dimensionales de la cresta. La dimensión vertical de la cresta disminuyó tras la extracción, y esta reducción de altura fue compensada por un sucesivo crecimiento. Los autores especularon sobre la posibilidad que la sobre erupción de los dientes adyacentes pudiera haber compensado parcialmente el remodelado vertical del alveolo del diente extraído.

ii) Tabaco. El hábito tabáquico puede afectar la cantidad de remodelado vertical de la cresta alveolar tras la extracción. Saldanha y colaboradores (Saldanha et al., 2006) observaron en un estudio clínico diferencias estadísticamente significativa en la reducción vertical entre fumadores y no fumadores. En el grupo de fumadores la reducción de la cresta 6 meses después de la extracción fue de 1.5 mm mientras que en el grupo de no fumadores esta reducción fue de 1.0 mm. Los mecanismos exactos por los cuales el tabaco puede interferir con la cicatrización de los alveolos no están todavía claros.

iii) Dientes monoradiculares/multiradiculares. Existe muy poca evidencia científica en relación a la influencia de la anatomía del diente y el remodelado alveolar tras extracción. En un estudio clínico publicado en el 2010 (Moya-Villaescusa & Sánchez-Pérez 2010) los autores analizaron radiográficamente el remodelado vertical de la cresta tras extracción y examinaron las diferencias entre dientes mono-radiculares y pluri-radiculares. La evaluación radiográfica con radiografías periapicales estandarizadas se tomó el día de la extracción y 3 meses después. Al comparar los resultados los dientes mono-radiculares sufrieron una reabsorción vertical (4,16mm; IC: 3,51-4,80) comparable con aquella evidenciada en el grupo de dientes multi-radiculares (4,48mm: IC: 3,70-5,25). No se encontraron diferencias en relación a la localización de los dientes extraídos (maxilar vs mandíbula).

### **3. Colocación de implantes dentales en alveolos post extracción**

La colocación de implantes tras la extracción de un diente está definida como protocolo de colocación de implante tipo I (Hämmerle et al. 2004). Este tipo de protocolo quirúrgico fue introducido por primera vez al final de los años 70' (Schulte & Heimke 1976) como protocolo alternativo al protocolo clásico de cirugía de implantes dentales descrito por Branemark (Branemark PI. 1983). Algunos autores describen ciertas ventajas de este protocolo de implantes inmediatos como el reducido número de intervenciones quirúrgicas que sufre el paciente y una mayor conservación de la cresta ósea residual (Paolantonio et al. 2001). Un primer estudio pre-clínico fue diseñado para averiguar si los implantes colocados con protocolo tipo 1 presentaban el mismo proceso de osteointegración de los implantes colocados en cresta cicatrizada (Lundgren et al. 1992). Los autores utilizaron implantes cónicos (*Root Analogue Implants*) colocados en alveolos de premolares mandibulares en

perros Beagle. La tasa de osteointegración, medida como BIC (*Bone to Implant Contact*) resultó ser de 30.5% (DE 12.2) y 64.4% (DE 12.2) a las 2 y 12 semanas de cicatrización, respectivamente. En experimentos sucesivos se colocaron también implantes cilíndricos, y se demostró que independientemente del espacio entre la superficie del implante y las paredes internas del alveolo (*GAP*), el proceso de osteointegración ocurría de forma predecible tanto en modelos pre-clínicos (Karabuda et al., Anneroth et al. 1985, Barzilay et al. 1996) cuanto en humanos (Wilson et al.).

Aunque estos estudios demostraron que la osteointegración alrededor de implantes inmediatos era predecible, no describieron detalladamente el impacto que la colocación del implante inmediato podría tener en los procesos de remodelado (modelado) del tejido óseo crestral. Este proceso fue investigado por primera vez en una serie de estudios pre-clínicos, llevados a cabo por la escuela de Gotemburgo (Araújo et al. 2005, 2006a, b), en los que se analizó detenidamente las alteraciones crestales que tienen lugar en el alveolo tras la colocación de un implante inmediato. En los últimos años se han añadido otros estudios tanto en modelos pre-clínicos cuanto en humanos, que han aportado informaciones útiles para entender las fases de cicatrización alrededor de los implantes inmediatos, que revisaremos en detalle en el apartado siguiente

### *3.1 Alteraciones de la cresta*

Diferentes autores han descrito los cambios dimensionales de las crestas alveolares tras la colocación de un implante inmediato. En la tabla 2 se presenta un resumen de los datos histométricos derivados de estudios preclínicos presentes en literatura que analizan la pérdida ósea vestibular tras la colocación de implantes con protocolo de tipo I.

En un estudio reciente Vignoletti y colaboradores (Vignoletti et al. 2009) han descrito la cicatrización precoz desde las 4 horas hasta las 8 semanas de la cresta alveolar lingual y vestibular. A las 4 horas de la colocación del implante (diámetro 3,25mm), la tabla vestibular estaba compuesta principalmente por hueso fasciculado (HF) o por una combinación de HF y hueso lamelar (HL) en las tablas de mayor dimensión. La cresta lingual siempre resultaba mas coronal y mas gruesa y se componía casi exclusivamente por HL. Tras una semana de cicatrización (7 días), la pared interna de las dos tablas óseas, presentaba numerosas células multinucleadas (osteoclastos) y a las dos semanas (14 días) los autores

describieron la presencia de una intensa actividad de nueva formación ósea. En este mismo intervalo el HF se caracterizaba por signos de reabsorción. Al mes y a los dos meses de cicatrización, el modelado y remodelado óseo eran evidentes a lo largo de ambas crestas y el HF ya no estaba presente. La reabsorción vertical de las crestas, cuantificadas con medidas lineales, fue de 0,73 mm (DE  $\pm$  0,28) en el lado vestibular y la mayor parte de esta reabsorción tenía lugar a lo largo de la primera semana de cicatrización (0,7 mm DE  $\pm$  1,3) mientras que tan solo mínimos cambios ocurrían al final del estudio. La tabla lingual, a las 4 horas, se encontraba 0,7 mm coronal al hombro del implante, y mostró mínimos cambios verticales durante todas las 8 semanas de duración del estudio.

En un modelo experimental muy similar Araujo y colaboradores (Araújo et al. 2005) colocaron implantes de 4,1mm de diámetro inmediatamente tras la extracción en los alveolos distales del tercer y cuarto premolar mandibular. A los 3 meses de cicatrización el remodelado vertical en el lado vestibular fue de 2,6 mm (DE  $\pm$  0,4mm).

El mismo grupo de investigación (Araújo et al. 2006a) publicó los resultados de un modelo experimental parecido, en el que se analizaron los cambios al mes y a los 3 meses de cicatrización. Se observó que la pérdida ósea vertical fue de 0,7mm (DE  $\pm$  0,5mm) tras 4 semanas y 2,1 mm (DE  $\pm$  0,4 mm) al final del estudio (3 meses). La cresta lingual del alveolo sufrió mínimos cambios dimensionales. Un tercer estudio del mismo grupo de investigación (Araújo et al. 2006b) fue diseñado para evaluar los cambios horizontales y verticales de las crestas tras la colocación de implantes de 4,1 mm de diámetro en el alveolo distal del tercer premolar y del primer molar. Se valoró la dimensión buco-lingual de cada alveolo y el grosor de la tabla ósea en tres localizaciones: 1, 2 y 3 mm desde la porción mas coronal de la cresta y se valoraron 2 tiempos de cicatrización (1 y 3 meses). La dimensión buco lingual de los alveolos de los premolares era de 3,8mm (DE  $\pm$  0,3 mm) mientras que la dimensión buco lingual de los molares era de 5,8mm (DE  $\pm$  0,2mm). Tras 4 semanas de cicatrización la reabsorción vertical de la cresta vestibular fue de 0,7mm (DE  $\pm$  0,6mm) en el alveolo de los premolares mientras que no se observaba ningún cambio en la tabla vestibular de los primeros molares. Con respecto a los cambios horizontales la reabsorción fue mayor en el lado vestibular en correspondencia de los molares. Estos cambios se apreciaron principalmente en el aspecto vestibular, debido a que la tabla lingual resulto mas estable. La

perdida ósea vertical al final del estudio resulto de 2,1mm (DE  $\pm$  0,5mm) en el alveolo del tercer premolar, mientras que en el alveolo del primer molar, donde el gap entre implante y alveolo era mayor, fue de 1,0 mm.

Diferentes parámetros han sido evaluados para conocer sus influencia sobre el remodelado óseo de la tabla vestibular tras la colocación del implante inmediato. A continuación se revisaran las principales evidencias pre-clínicas (estudios experimentales) disponibles en literatura.

### *3.2 Factores influyentes en el proceso de cicatrización*

#### *i) Grosor de la tabla vestibular.*

Se ha observado que cuanto menor es el grosor de la tabla vestibular mayor es el remodelado vertical de la misma tras la colocación de un implante inmediato. Tanto en el estudio de Vignoletti y colaboradores (Vignoletti et al. 2009), como en el estudio de Araujo y colaboradores (Araújo et al. 2006b) colocaron un implante en el alveolo con diferentes anchuras de la tabla, siendo a nivel del tercer premolar mas fina que en el cuarto premolar. En ambos estudios el remodelado vertical obtenido en el tercer premolar resulto mayor. Qahash y colaboradores (Qahash et al. 2008), en un modelo experimental, tras la colocación de implantes inmediatos observaron en los alveolos con una tabla vestibular de grosor menor a 2mm, una cantidad de remodelado vertical doble, en comparación a los alveolos donde el grosor de la tabla excedía los 2mm. La evidencia analizada sugiere que el grosor de la tabla vestibular puede representar un parámetro critico para la cantidad de remodelado vertical alrededor de implantes inmediato.

#### *ii) Posición tridimensional del implante.*

Piattelli y colaboradores (Piattelli et al. 2003) evaluaron el papel de la profundidad de la colocación del hombro del implante en sentido apico-coronal en un modelo preclínico en 12 monos. Se colocaron los implantes de forma inmediata de manera que el hombro de los implantes fuera posicionado 1 mm coronal a la cresta vestibular del alveolo (grupo 1), a ras de la cresta (Grupo 2) y 1,5mm apical a la cresta. Los implantes colocados tenían un diámetro de 4mm. El grupo que presentó una menor cantidad de remodelado de la cresta fue el grupo 1. La cantidad de reabsorción ósea en los otros dos grupos resultó comparable.

En el estudio diseñado por Caneva y colaboradores (Caneva et al. 2010c) se utilizaron los alveolos de los premolares en 6 perros labrador. En el grupo test los implantes se colocaron lingualmente y 0,8mm en posición apical a la cresta vestibular, mientras que en el grupo control se colocaron en el centro del alveolo y a ras de la cresta vestibular. Las diferencias fueron evaluadas tras 4 meses de cicatrización. Los resultados demostraron que en el grupo control la reabsorción de la cresta vestibular fue de 2,0mm (DE  $\pm$  0,9mm) mientras que en el grupo test fue de 1,4mm (DE  $\pm$  0,8mm), sin que estas diferencias fuesen estadísticamente significativa.

A la luz de los estudios preclínicos descritos la posición tridimensional del implante juega un papel decisivo en el remodelado vertical de la cresta residual. La colocación del implante en posición lingual/apical reduce la magnitud de la reabsorción crestal en el lado vestibular.

### *iii) Diámetro del implante.*

La hipótesis que el gap horizontal entre la superficie del implante y la cara interna de la pared del alveolo pueda influir sobre el remodelado vertical de la tabla vestibular ha sido analizada en varios modelos pre-clínicos. En dos estudios con modelos similares (perro Beagle, implantes en tercer y cuarto premolar mandibular) (Araújo et al. 2006a) (Covani et al. 2010) la cantidad de remodelado vertical de cresta vestibular resulto tres veces mayor (2,1mm vs 0,8mm) en el estudio de la escuela de Gotemburgo. Una de las posibles explicaciones por este distinto grado de reabsorción puede ser la diferencia en el diámetro de los implantes utilizados en el protocolo experimental. En el estudio de Araujo y cols. se utilizaron implantes de 4,1mm de diámetro mientras que en el estudio conducido por Covani y coll. el diámetro de los implantes fue de 3,25mm. Debido a que el diámetro medio de los alveolos de los premolares mandibulares en el perro Beagle es de alrededor de 4mm (3,9/4,1mm) el menor gap presente en el protocolo llevado a cabo por la escuela sueca (Araújo et al. 2006a) puede haber influido en la mayor reabsorción vertical de la cresta.

Estas observaciones han sido corroboradas en un estudio pre-clínico controlado en el que implantes inmediatos de 3,3mm de diámetro (con un gap de 1,1mm) e implantes de 5mm (sin ningún tipo de gap) se compararon (Caneva et al. 2010d). Tras 4 meses de cicatrización el remodelado vertical de la cresta vestibular fue de 1,5mm en el grupo de implantes de 3,3mm de diámetro y 2,7mm en el grupo con implantes de 5mm de diámetro.

*iv) Manejo clínico del "GAP".*

A la luz de la evidencia científica analizada, varios autores han propuesto diferentes protocolos clínicos para el manejo del espacio entre el implante y la cara interna del alveolo. Diferentes sustitutos óseos se han utilizado para rellenar dicho "gap" con el objeto de reducir el remodelado vertical de la tabla vestibular tras colocación de un implante inmediato. Araujo y coll. (Araújo et al. 2011) utilizaron 5 perros Beagle en los que se extrajeron los 4 premolares mandibulares y se colocaron implantes inmediatos (diámetro 3,3 mm) en los alveolos distales. En el grupo test en el gap fue colocado un injerto de hueso xenogénico (Bio-Oss Collagen®; Geistlich Pharma) mientras que el grupo control no se colocó ningún sustituto de hueso. Tras 6 meses de cicatrización la tabla vestibular del grupo test resultaba de mayor espesor y con su punto mas coronal localizado en proximidad del comienzo de la superficie de titanio rugoso ( $0,1\text{mm} \pm 0,5$  mas apicalmente). En el grupo control sin embargo, la cortical era mas fina y colocada siempre apicalmente del inicio de la superficie de titanio rugosa ( $1,3\text{mm} \pm 0,7$  mas apicalmente). Otro grupo de investigación (Caneva et al. 2011) evaluó la influencia de colocar un sustituto de hueso en el "gap" tras colocar implantes post extracción, a base de hidroxiapatita enriquecida con magnesio, sobre la tasa de osteointegración y los cambios dimensional de la cresta residual. Se utilizaron implantes de 3,3 mm de diámetro colocados en el alveolo distal del 4º premolar mandibular, con el hombro del implante posicionado a nivel iuxta-crestal. Tras 4 meses de cicatrización la posición de la tabla vestibular en el grupo test (implante + HA) estaba  $0,7\text{mm} \pm 1$  mas apical, mientras que en el grupo control (implante inmediato solo) el margen mas coronal de la tabla en el lado vestibular estaba  $1,2\text{mm} \pm 0,6$  mas apicalmente, aunque las diferencias entre los dos grupos no resultaron estadísticamente significativas. El mismo grupo de investigación (Caneva et al. 2010a) también estudió el papel de la colocación de una membrana de colágeno para cubrir el "gap" entre el implante y la pared interna del alveolo. En el grupo test implantes de 3,3 mm de diámetro se colocaron en el alveolo distal del tercer premolar mandibular mientras que en el grupo control el implante inmediato fue dejado cicatrizar sin ninguna intervención. La cicatrización en los dos grupos fue de tipo sumergido. A los 4 meses de cicatrización el remodelado vertical de la tabla vestibular fue de  $2,2 \pm 0,5\text{mm}$  y  $1,7 \pm 0,5\text{mm}$  en sentido apical en el grupo test y control respectivamente. De manera parecida, Barone y colaboradores (Barone et al. 2011) evaluaron la tasa de remodelado alveolar tras la colocación de un implante inmediato colocando en el "gap" un

xeno-injerto y añadiendo una membrana en colágeno (Regeneración Ósea Guiada, grupo test). Se utilizaron como sitios experimentales los premolares y molares mandibulares de 5 perros Beagle. El grupo control consistió en implantes inmediatos de 3,25mm de diámetro solamente. A las doce semanas de cicatrización el grupo test no mostraba signos de remodelado vertical de la cresta vestibular mientras que en el grupo control se encontraba  $0,7 \pm 0,6$ mm mas apicalmente. A nivel de los molares tanto en el grupo test como en el control no se observaron cambios dimensionales.

Resultados diferentes obtuvieron Caneva y colaboradores (Caneva et al. 2012) utilizando un protocolo parecido. En 6 perros labradores se extrajeron los 3 premolares mandibulares y se colocaron implantes inmediatos de 3,1mm de diámetro en el alveolo distal en una posición lingual respecto al centro del alveolo. En el grupo test además se colocaron xeno-injerto (hueso bovino de-proteinizado) y una membrana en colágeno. El "gap" que se formó tras la colocación del implante media 0,6mm de ancho y 3,1mm de profundidad, tanto en el grupo test cuanto en el control. Tras 4 meses de cicatrización se observó una cantidad de remodelado vertical en la cortical vestibular de  $1,8 \pm 1,1$ mm y de  $2,1 \pm 1$ mm en test y control respectivamente. Los autores concluyeron que el aporte de la ROG para reducir el remodelado vertical puede considerarse cuestionable. Estas diferencias en los resultados publicados pueden deberse a los diferentes alveolos estudiados (3P3 vs 4P4 y 1M1) y a las diferencias en términos de volumen de "gap" alrededor de los implantes.

Más recientemente Favero y colaboradores (Favero et al. 2013) quisieron también evaluar el efecto sobre el remodelado de la cresta vestibular de la colocación de la combinación de un xeno-injerto con una membrana de colágeno (ROG). En este estudio se utilizaron los alveolos distales de los molares mandibulares de 6 perros labradores. En el grupo test los implantes inmediatos (5mm de diámetro) se colocaron junto con hueso bovino de-proteinizado y una membrana de colágeno, mientras que en el grupo control se colocaron los implantes solamente. En ambos grupo se posicionaron los implantes en el lado lingual del alveolo, con el hombro del implante a nivel de la cresta ósea vestibular y se dejaron cicatrizar de forma no sumergida. El tamaño medio del "gap" era de 2,5 y 2,7mm de diámetro para test y control respectivamente. A los 3 meses de cicatrización la cortical lingual se encontraba 1,6 y 1,5 mm mas apical, para test y control respectivamente. La tabla ósea vestibular sufrió una reabsorción vertical de  $1,6 \pm 1,5$ mm en el grupo test y  $1,5 \pm$

1,3mm en el grupo control sin que hubiese diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos.

*v) Influencia del protocolo quirúrgico.*

El papel que juega la elevación de un colgajo durante la colocación de los implantes inmediatos se ha evaluado en varios modelos pre-clínicos. La hipótesis que se ha formulado es que colocar los implantes inmediatos con técnica sin colgajo (*flapless*) podría reducir la cantidad de remodelado vertical y horizontal de la cresta alveolar. Blanco y colaboradores (Blanco et al. 2008) colocaron implantes de 3,3mm de diámetro en los alveolos distales de premolares mandibulares de 5 perros Beagle. En el grupo test los implantes se colocaron inmediatamente tras la extracción sin levantar colgajo, mientras que en el grupo control fue levantado un colgajo a espesor total para acceder a los alveolos. Los implantes se colocaron de manera que la superficie de titanio rugoso del implante coincidiese a nivel más coronal de la cresta ósea vestibular. Tras 4 meses de cicatrización el punto más coronal del primer contacto hueso-implante fue 0,82mm y 1,33mm más apical que la superficie rugosa del implante para el grupo test y control respectivamente. Las diferencias no resultaron estadísticamente significativa. Caneva y colaboradores (Caneva et al. 2010b) también evaluaron la diferencias entre el remodelado de la cresta alveolar tras la colocación de implantes con técnica con y sin colgajo. En 6 perros labradores, tras la extracción de los premolares mandibulares, se colocaron implantes inmediatos: en el grupo test, se colocaron sin colgajo mientras que en el grupo control se levanto un colgajo a espesor total. Tras 4 meses de cicatrización la distancia lineal entre el margen de la superficie rugosa del implante y el punto más coronal de la cresta vestibular resultó muy similar entre los dos grupos, sin diferencias estadísticamente significativa (test  $1,7\text{mm} \pm 1,0$  vs. control  $1,5\text{mm} \pm 1,0$ ).

*vi) Influencia de la superficie del implante.*

La posible influencia del tipo de superficie de implante sobre el remodelado óseo de la cresta fue estudiada por Vignoletti y colaboradores en el 2009 (Vignoletti et al. 2009). En este estudio se compararon las cicatrizaciones precoces de implantes inmediatos con dos diferentes micro topografías de superficie. El grupo test consistía en implantes con una superficie caracterizada por nanopartículas de fosfato cálcico (DCD nanoparticles; Nanotite;

Biomet 3i) mientras que el grupo control presentaba superficies estándar de doble grabado ácido (DAE osseotite, Biomet 3i). La evaluación de los cambios dimensionales no detectó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos, aunque se observó una tendencia hacia la menor reabsorción vertical en el grupo test. En 2010, el grupo de Coelho y colaboradores (Coelho et al. 2010) evaluó la influencia que dos tipos diferentes de superficie tenían en el remodelado de la cresta. Los implantes del grupo control presentaban un cuello implantario pulido ("*machined collar*") mientras que el grupo test presentaba una superficie rugosa (DT Ossean, Intra lock international, Boca Raton, FL). Se colocaron los implantes inmediatos en los alveolos distales de los 3° y 4° premolares mandibulares. Los implantes tenían un diámetro de 4 mm. Tras 4 semanas de cicatrización los implantes del grupo test presentaban una cantidad de remodelado vertical de la cresta vestibular inferior en comparación con los implantes del grupo control (2,31mm vs 2,65mm), y esta diferencia resultaba estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

#### **4. Comparación entre Implante inmediato y alveolo post extracción**

Existe una evidencia limitada en la literatura sobre las diferencias de cicatrización entre implantes inmediatos en alveolos post-extracción y alveolos dejados cicatrizar espontáneamente en un mismo modelo experimental. En un estudio (Araújo et al. 2005) se ha comparado la reducción vertical de las crestas vestibulares y linguales tras la colocación de implantes inmediatos. El grupo test consistía en implantes colocados inmediatamente en los alveolos distales de los 3° y 4° premolares mandibulares, mientras que en el lado contralateral de la mandíbula, tras la extracción de las raíces distales, los alveolos se dejaron cicatrizar de forma espontánea (grupo control). Tras 3 meses de cicatrización en el grupo test, el punto más coronal del contacto hueso-implante, resultó  $2,6\text{mm} \pm 0,4$  más apical, mientras que en el grupo control la porción más coronal de la cresta vestibular se encontraba  $2,2\text{mm} \pm 0,9$  más apical que la correspondiente porción lingual. En ambos grupos el remodelado de la cresta fue muy marcado, y la colocación del implante no fue capaz de contrarrestar este remodelado.

Autores	Modelo Experimental	Tiempo de Cicatrización	Localización del Alveolo	Características del Implante	Protocolo Quirúrgico	Perdida ósea vestibular
Araujo et al. 2005	5 perros Beagle	3 meses	3/4 premolar	Straumann (4,1)	Centro	2,6 ± 0,4
Araujo et al. 2006	6 perros Beagle	1 y 3 meses	4 premolar 1 molar	Straumann (4,1)	Centro	2,1 ± 0,5 1,0 ± 0,7
Araujo et al. 2006	7 perros Beagle	0 y 1 año y 2 meses	3/4 premolar	Straumann (4,1)	Centro	2,1 ± 0,4
Botticelli et al.2006	6 perros Labrador	2 y 4 meses	3/4 premolar	Astra (3,5)	Centro	3,14 ± 1,1
Blanco et al. 2008	5 perros Beagle	3 meses	3/4 premolar	Straumann (3,3)	Centro; Colgajo/Sin Colgajo	1,33 0,82
Vignoletti et al.2009	16 perros Beagle	0,1,2,4,8 semanas	3/4 premolar	3i (3,25)	Centro	0,76 ± 0,6
Caneva et al 2010	6 perros Labrador	4 meses	3 premolar	Sweden & Martina (3,3)	Centro; 0,8mm apical y lingual	2,0 ± 0,9 0,6 ± 0,8
Caneva et al 2010	6 perros Labrador	4 meses	4 premolar	Sweden & Martina (3,3 vs 5,0))	Centro	1,5 ± 0,6 2,7 ± 0,4
Caneva et al 2010	6 perros Labrador	4 meses	2 premolar	Sweden & Martina (3,3)	Centro; Colgajo/Sin Colgajo	1,7 ± 1,0 1,5 ± 1,0
Caneva et al 2010	6 perros Labrador	4 meses	3 premolar	Sweden & Martina (3,3)	Centro; Membrana Colágeno vs no membrana; Cicatrización sumergida	2,2 ± 0,5 1,7 ± 0,5
Araujo & lindhe 2011	5 perros Beagle	6 meses	4 premolar	Straumann (3,3)	Centro; xenoinjerto (HBD) vs no injerto	0,1 ± 0,5 1,3 ± 0,7
Caneva et al 2012	6 perros Labrador	4 meses	3 premolar	Sweden & Martina (3,3)	Centro; xenoinjerto (HBD) vs no injerto	1,8 ± 1,1 2,1 ± 1,0
Barone et al.2011	5 perros Beagle	2, 4 y 12 semanas	4 premolar	3i (3,25)	Centro; Injerto (HP)+membrana de colágeno vs no ROG; Cicatrización sumergida	0,15 ± 0,5 0,7 ± 0,6
Barone et al.2011	5 perros Beagle	2, 4 y 12 semanas	1 molar	3i (3,25)	Centro; Injerto (HP)+membrana de colágeno vs no ROG; Cicatrización sumergida	-0,5 ± 0,5 0,0 ± 0,6
Favero et al.2013	6 perros Labrador	3 meses	4 premolar	Nobel Mark III (3,3)	Lingual; Injerto (HBD) Membrana Colágeno vs no ROG Cicatrización no sumergida	-0,1 ± 1,7 0,0 ± 1,1

**Tabla 2. Resumen de los estudios preclínicos sobre implantes y pérdida ósea vestibular. HBD-Hueso Bovino deproteínizado; HP-Hueso Porcino**

#### **IV JUSTIFICACIÓN**

La evidencia científica procedente de modelos preclínicos no ha dilucidado claramente los procesos biológicos que acontecen tanto tras la extracción dentaria y tras la colocación de un implante inmediato a la extracción, aunque estos protocolos son muy utilizados en la clínica diaria. Una información detallada sobre dichos procesos de cicatrización y los factores que influyen en los mismos pueden resultar esenciales para una correcta toma de decisiones tras la extracción de un diente y su ulterior reposición con un implante dental. En concreto los siguientes procesos no han sido suficientemente estudiados y su evidencia científica es insuficiente:

1. Los procesos de cicatrización que acontecen en fases tempranas en el interior del alveolo tras la extracción de un diente
2. Los procesos de cicatrización en las corticales vestibulares y linguales inmediatamente después la extracción de un diente
3. Las alteraciones dimensionales de la cresta que ocurren tras la colocación de implantes de forma inmediata tras la extracción del diente
4. La comparación de cambios dimensionales en las fases precoces de cicatrización de las crestas alveolares entre un alveolo dejado cicatrizar espontáneamente y un implante inmediato.

## **V HIPÓTESIS**

hipótesis general de este trabajo es que los procesos biológicos que ocurren durante la cicatrización espontánea de un alveolo tras la extracción dentaría son diferentes que los que ocurren cuando se coloca un implante inmediato, fundamentalmente en cuanto a la magnitud en el remodelado de las crestas óseas residuales.

## **VI OBJETIVOS**

El objetivo general fue estudiar, en un modelo experimental, los cambios tempranos que acontecen en el proceso de modelado y remodelado óseo tras la extracción de un diente. Además se quiso comparar las diferencias en alveolos adyacentes del remodelado de los tejidos duros comparando la colocación de un implante inmediato con un alveolo que se deja cicatrizar espontáneamente.

Los objetivos específicos fueron:

1. Describir los resultados histológicos de los alveolos tras seis semanas de cicatrización y comparar estos resultados con la cicatrización de alveolos adyacentes en los que se había colocado un implante inmediato (estudio 1)
2. Describir la fases de cicatrización temprana de los alveolos tras la extracción de un diente y analizar los cambios dimensionales lineares de las crestas alveolares en sentido vertical y horizontal (estudio 2)
3. Evaluar histológicamente los cambios precoces que acontecen tras la extracción de un diente y compararlos, en alveolos adyacentes, a los que ocurre cuando se coloca un implante inmediato (estudio 3)

## VII MATERIAL, MÉTODOS Y RESULTADOS

La descripción detallada del material y métodos, así como los resultados de este trabajo de investigación han sido publicados como artículos científicos originales en tres publicaciones en las revistas científicas *Journal of Clinical Periodontology* y *Clinical Oral Implant Research* con las siguientes referencias:

1. Vignoletti, F., Discepoli, N., Müller, A., De Sanctis, M., Muñoz, F. & Sanz, M. (2012) Bone modelling at fresh extraction sockets: Immediate implant placement versus spontaneous healing. An experimental study in the beagle dog. *Journal of Clinical Periodontology* **39**, 91–97.
2. Discepoli, N., Vignoletti, F., Laino, L., De Sanctis, M., Muñoz, F. & Sanz, M. (2013) Early healing of the alveolar process after tooth extraction: An experimental study in the beagle dog. *Journal of Clinical Periodontology* **40**, 638–644.
3. Discepoli, N., Vignoletti, F., Laino, L., de Sanctis, M., Muñoz, F. & Sanz, M. (2014) Fresh extraction socket: spontaneous healing vs. immediate implant placement. *Clinical oral implants research*, **26**, 2015, 1250-1255

# Bone modelling at fresh extraction sockets: immediate implant placement versus spontaneous healing. An experimental study in the beagle dog

Fabio Vignoletti<sup>1</sup>, Nicola Discepoli<sup>1</sup>, Anna Müller<sup>2</sup>, Massimo de Sanctis<sup>2</sup>, Fernando Muñoz<sup>3</sup> and Mariano Sanz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduate Periodontology, Faculty of Odontology, University Complutense of Madrid, Madrid, Spain; <sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche, Università degli studi di Siena, Siena, Italy; <sup>3</sup>School of Veterinary, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain

Vignoletti F, Discepoli N, Müller A, de Sanctis M, Muñoz F, Sanz M. Bone modelling at fresh extraction sockets: immediate implant placement versus spontaneous healing. An experimental study in the beagle dog. J Clin Periodontol 2012; 39: 91–97. doi: 10.1111/j.1600-051X.2011.01803.x.

## Abstract

**Objectives:** The purpose of this investigation is to describe histologically the undisturbed healing of fresh extraction sockets when compared to immediate implant placement.

**Methods:** In eight beagle dogs, after extraction of the 3P3 and 4P4, implants were inserted into the distal sockets of the premolars, while the mesial sockets were left to heal spontaneously. Each animal provided four socket sites (control) and four implant sites (test). After 6 weeks, animals were sacrificed and tissue blocks were dissected, prepared for ground sectioning.

**Results:** The relative vertical buccal bone resorption in relation to the lingual bone was similar in both test and control groups. At immediate implant sites, however, the absolute buccal bone loss observed was 2.32 (SD 0.36) mm, what may indicate that while an apical shift of both the buccal and lingual bone crest occurred at the implant sites, this may not happen in naturally healing sockets.

**Conclusions:** The results from this investigation showed that after tooth extraction the buccal socket wall underwent bone resorption at both test and control sites. This resorption appeared to be more pronounced at the implant sites, although the limitations of the histological evaluation method utilized preclude a definite conclusion.

Key words: beagle dog; bone resorption; fresh extraction socket; healing; immediate implant

Accepted for publication 30 August 2011

## Conflict of interest and source of funding statement

The authors declare that they have no conflict of interests. This study was supported by a research grant from Thommen Medical.

In recent years, immediate implant placement after tooth extraction (Type I implant placement protocol; Hammerle et al. 2004) has become a common surgical protocol in daily practice. The advocates for this procedure have argued that by reducing

the surgical exposure, a more limited physiological bone resorption will occur after tooth extraction and implant installation (Paolantonio et al. 2001). The histological studies, both in humans (Wilson et al. 1998) and in animals (Anneroth et al.

1985, Barzilay et al. 1996, Karabuda et al. 1999), evaluating the healing of implants placed into fresh extraction sockets when compared to implants placed in healed crests, have documented a similar pattern of osseointegration.

The healing of the alveolar ridge after tooth extraction has been documented in dogs (Cardaropoli et al. 2003, Araujo & Lindhe 2005) evidencing a physiologic process of bone modelling and remodelling leading to horizontal and vertical resorption of the buccal socket wall. When implants have been placed immediately upon tooth extraction, different studies have documented, however, varied dimensional changes (Araujo et al. 2006, Vignoletti et al. 2009), with a mean buccal bone resorption ranging between 3.14 mm (Botticelli et al. 2006) to 0.1 mm (Araujo & Lindhe 2011). This high variability may be explained by the use of different pre-clinical models, different healing times, different implant diameters and geometries, as well as different surgical protocols. Another confounding factor is the influence of raising a flap and exposing the underlying crestal bone. While some studies evaluating the healing of the socket after tooth extraction have reported more (about 14%) soft and hard tissue resorption when comparing flap *versus* "flapless" tooth removal (Fickl et al. 2008), other similar experiments failed to demonstrate any significant difference (Araujo & Lindhe 2009). This disagreement in the results when comparing flap *versus* flapless surgery has also been reported when studying the impact of placing an implant immediately after tooth extraction. While Blanco et al. (2008) observed a higher crestal bone resorption when raising a flap, Caneva et al. (2010a) did not find significant differences.

In light of this variability it is unclear whether the placement of an immediate implant may have any advantage in terms of hard and soft tissue preservation over leaving the socket to heal spontaneously. Only one experimental animal study has made a direct comparison by studying the healing process of fresh extraction sockets with and without immediate implant placement (Araujo et al. 2005). In this investigation,

the amount of buccal bone height reduction after 3 months of healing was similar at both sites in contralateral jaws. It is, however, unknown whether adjacent sockets will heal differently when an immediate implant is inserted in one of the sockets. It was, therefore, the purpose of this investigation to describe the histological outcomes at six weeks, of fresh extraction sockets left to heal spontaneously and to compare these outcomes with the healing of adjacent sockets where implants were immediately inserted.

#### Materials and Methods

The Regional Ethics Committee for Animal Research of Madrid approved the protocol of this investigation. This animal experimental study was carried out at the Experimental Surgical Centre of the Hospital "Gomez-Ulla" in Madrid, Spain. The experimental model used in this investigation has been described in a recent publication (de Sanctis et al. 2009). Briefly, eight adult beagle dogs with a weight ranging between 10 and 20 kg participated in this prospective study. Each animal provided four-test implant sites and four edentulous sites (Figs 1 and 2). All animals were sacrificed 6 weeks after implant placement. The four implant sites were filled with four different commercially available implant systems: 3i (Biomet 3i, Palm Springs FL, USA) Osseotite Certain straight  $\text{\O} 3.25 \text{ mm/l} = 8.5, 11.0 \text{ mm}$ ; Astra (Astra Tech, Molndal, Sweden) MicroThread™- OsseoSpeed™  $\text{\O} 3.5 \text{ mm/l} = 9.0, 11 \text{ mm}$ ; Thommen (Thommen Medical AG, Waldenburg, Switzerland) SPI ELEMENT®  $\text{\O} 3.5 \text{ mm/l} = 9.5 \text{ mm}$ ; Straumann

(Straumann AG, Basel, Switzerland) ITI standard  $\text{\O} 3.3 \text{ mm/l} = 8, 12 \text{ mm}$ , and were compared with the adjacent edentulous sites that underwent an undisturbed healing of the socket during the same time period. A total of 32 implant sites and 32 edentulous sites were evaluated.

#### Surgical procedure

Once the animals were anesthetized, intra-sulcular incisions were performed and full thickness flaps were reflected in order to gain access to the alveolar crest. The third and fourth mandibular premolars were extracted with minimal trauma aiming to preserve the walls of the sockets. The distal socket of each premolar was selected as the implant-recipient site (test/implant site) while the mesial sockets were allowed to fill with blood and heal without any further intervention (control/edentulous site) (Fig. 1). At the implant sites, the four-implant types were randomly placed into the center of the distal sockets of 3P3 and 4P4, on each side of the mandible. The osteotomies were drilled into the sockets to ensure levelling of the implant-seating platform in two-piece implants (3i and Astra) with the marginal portion of the buccal plate. In one-piece implants (Thommen and Straumann) the levelling with buccal bone crest was aimed at the limit between the rough implant surface and the polished collar of 1 and 1.8 mm respectively. Healing abutments were then secured and the flaps were sutured with 4-0 vicryl resorbable sutures, aiming for a non-submerged postoperative healing. At the mesial roots of the premolars (edentulous sites) the sockets were left

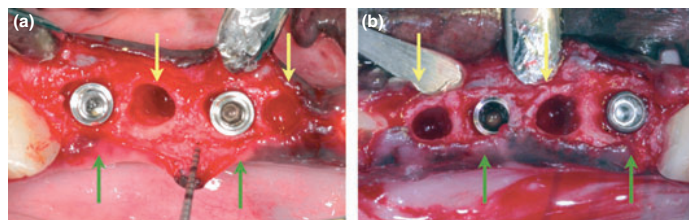


Fig. 1. Immediate implant placement sites (green arrows) and adjacent edentulous sites (yellow arrows). (a) Thommen 3.5 SPI ELEMENT® and Straumann 3.3 ITI Standard. (b) Astra 3.5 Micro Thread® OsseoSpeed® and 3i Osseotite® Miniplant Certain straight.

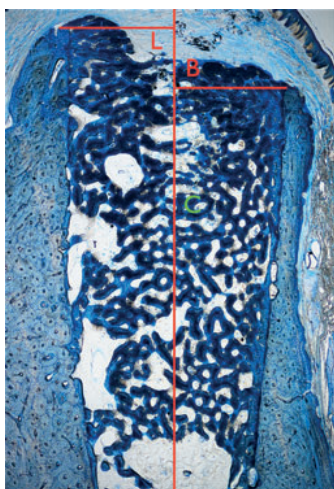


Fig. 2. The vertical distance (LB) between the buccal and lingual intersections with C-C was measured and expressed in millimetres represents the relative buccal bone loss at socket sites. Levai Laczko staining. Original magnification  $\times 20$ .

undisturbed and the flaps closed with simple sutures aiming for a semi-submerged healing. Plaque control was achieved using a chlorhexidine solution sprayed on the experimental sites on a 3-day/week regimen. Six weeks after the extraction and implant placement the animals were sacrificed and specimens were retrieved for histological evaluation.

#### Histological methods

Animals were sacrificed with an overdose of intravenously administered sodium Pentothal and perfused with a fixative solution (Karnovsky 1965) through the carotid arteries. The mandibles were freed from their attached tissues and cut in halves by means of a section between the central incisors. Tissue blocks containing the implant and the edentulous socket sites were dissected and prepared for ground sectioning. Calcified bucco-lingual ground sections were prepared according to methods described by (Donath & Breuner 1982) and in accordance with the experimental protocol outlined by de Sanctis et al. (2009). From each implant and edentulous site, one buccal-lingual section representing

the central area of the site was prepared. By microgrinding and polishing, the sections were reduced to a thickness of about  $20 \mu\text{m}$  and stained in Levai Laczko stain. The histological examination was performed in a Nikon Eclipse Ti microscope (Nikon, Heidelberg, Germany) equipped with image analysis software (Q-500 MC; Nikon).

#### Histomorphometric measurements

The histometric evaluation of the implant sites was reported in a previous publication (de Sanctis et al. 2009). The mean I-Bc distance (absolute value of bone loss, I. Implant shoulder, Bc most coronal bone crest) was calculated for each implant system (de Sanctis et al. 2009). Since implants with different macroscopic designs were used in this study, the average for each macroscopic design (one-piece and two-piece) per dog was calculated and reported. Likewise, the mean of the four-implant systems was calculated per dog and an overall mean value of the implant sites was reported.

At sites with spontaneous socket healing, four bucco-lingual sections per animal were assessed following the method described by Araujo & Lindhe (2005) using the landmarks depicted in Fig. 2. In brief, a line parallel to the long axis of the socket was drawn (C-C) in the centre of the section separating the socket in buccal and lingual compartments. Subsequently, horizontal lines perpendicular to C-C were drawn to project the most coronal portions of the buccal (B, buccal) and lingual (L, lingual) bone crest. The vertical distance (L-B) between the buccal and lingual intersections with C-C was measured and expressed in millimetres expressing the relative value of crestal bone loss. A mean measurement was calculated in each dog. A modification of this method was equally applied at the implant sites using the same landmarks and also calculating the relative value of buccal bone resorption in relation to the lingual crest.

The sockets left to heal spontaneously were further divided into three portions (apical, medium and coronal) and histomorphometric measurements of areas of woven bone were calculated using an image

analysis software (Q-500 MC; Nikon).

#### Statistical analysis

The Mann-Whitney test was used to evaluate the differences between the mean values of relative buccal bone loss of the implant sites (implant system, implant geometry and implant site) and their respective adjacent edentulous sites. The Kruskal-Wallis test was used in order to evaluate the differences in the healing of the sockets. The dog was used as the statistical unit and differences between test and control groups were considered significant when the  $p < 0.05$ .

#### Results

The postoperative healing in all experimental surgeries was uneventful and the animals demonstrated good behaviour, as shown by their eating and drinking ad libitum.

#### Histological observations

In the edentulous sites, the socket was closed with a bridge of cortical bone 6 weeks after tooth extraction. The inner socket wall, at both buccal and lingual aspects, presented variable proportions of woven bone coronal to the original parent bone. In some specimens, however, bundle bone was still observed at this level. In most of the specimens, the position of the buccal bone wall was more apical than the lingual wall, although in some specimens, they were at the same level (Fig. 3).

In the implant sites, a gap between the implant surface and the bony walls always occurred. This space was filled with varying proportions of woven bone. In few occasions, bundle bone was also observed in the inner portion of the socket. Lateral to the bundle bone, woven bone was observed in intimate contact with the implant surface. Varying degrees of apical displacement of the buccal bone wall occurred with all implant types tested.

#### Histo-morphometric results

The mean vertical buccal bone loss at implant sites (I-Bc) and the relative vertical bone loss (L-B) at both implant and edentulous sites are

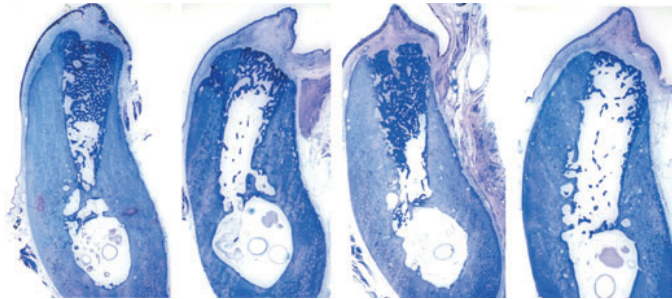


Fig. 3. Different types of buccal crest bone resorption of the sockets. Please note the different proportions of woven bone formation within the socket. Levaí Laczko staining. Original magnification  $\times 20$ .

Table 1. Relative and absolute buccal bone loss

Dog	Implant site <sup>†</sup> (I–Bc)	Implant site (L–B)	Edentulous site (L–B)
1	2.63	0.74	0.79
2	2.45	0.91	1.96
3	1.73	0.60	0.89
4	2.40	0.42	0.45
5	1.87	1.5	1.16
6	2.17	1.83	2.60
7	2.60	0.97	0.38
8	2.69	0.41	1.39
Mean	2.32*	0.92	1.20*
SD	0.36	0.50	0.76
Max	2.69	1.83	2.60
Min	1.73	0.41	0.38

\*Statistically significant difference.  $p < 0.05$ .

<sup>†</sup>Absolute value.

I–Bc, distance from the implant shoulder/rough-polished surface and the marginal bone crest; L–B, relative bone loss between the marginal portion of the lingual (L) and buccal (B) bone crest at implant sites and adjacent socket sites (mean and SD mm).

depicted in Table 1. Tables 2 and 3 show the same measurements stratified by implant system and by implant macroscopic design (i.e. one/two piece implants). Table 4 shows the relative proportion of woven bone formation within the socket sites.

Table 2. Relative and absolute buccal bone loss at different implant systems and adjacent socket sites

System	Implant site <sup>†</sup> (I–Bc)	Implant site (L–B)	Adjacent socket site (L–B)
3I	2.54 (1.39)	0.92 (0.64)	1.29 (1.00)
Astra	2.06 (1.63)	1.18 (0.92)	1.43 (1.04)
Thommen	2.02 (1.27)	0.61 (0.53)	0.85 (0.46)
Straumann	2.95 (1.79)*	0.97 (0.62)	0.94 (0.58)*

\*Statistically significant difference.  $p < 0.05$ .

<sup>†</sup>Absolute value.

I–Bc, distance from the implant shoulder/rough-polished surface and the marginal bone crest; L–B, relative bone loss between the marginal portion of the lingual (L) and buccal (B) bone crest at implant sites and adjacent socket sites. (mean and SD mm).

implants when absolute and relative values were compared (Table 3).

## Discussion

The specific objective of this investigation was to compare the histological outcomes of the healing after tooth extraction of sockets filled with an implant versus adjacent sockets left to heal spontaneously. For assessing the healing at the socket sites, an assessment method introduced by Araujo et al. (2005) was utilized to evaluate the vertical buccal bone changes in relation to the position of the lingual crest. This method was introduced to compare spontaneous socket healing with immediate implant placement (Araujo et al. 2005) or to assess different socket preservation approaches (Araujo et al. 2008, Fickl et al. 2008). One important limitation of this method is that the buccal bone loss is not absolute, since it is measured as relative to the position of the lingual wall, which can also change during the healing process. If it is assumed that the vertical dimension of the socket lingual bone wall does not change during healing (Araujo et al. 2005), then the relative and absolute values of the vertical changes of the buccal bone wall at socket and implant sites, will be comparable. Other studies however, have reported changes in the lingual bone during healing. By using an acrylic stent as fixed landmark, Aimetti et al. (2009) measured the vertical bone dimensional changes after either tooth extraction or socket preservation and reported a vertical bone loss of 0.9 (SD 1.1) mm at the palatal bone crest in the control group. Similarly, Sanz et al. (2010) in a randomized controlled clinical trial in humans reported 0.5 (SD 1.5) mm of palatal bone loss after immediate implant placement. Only few pre-clinical studies have reported histometric measurements of the baseline position of the lingual bone crest in respect to the implant shoulder. Araujo et al. (2006) observed that the initial position of the lingual bone crest was located 1.1 (SD 0.5) mm coronal to the implant shoulder at day 0, whereas at the end of the study the corresponding value was 0.4 (SD 0.4) mm, thus demonstrating 0.7 mm of

Table 3. Relative and absolute buccal bone loss at one and two piece implant systems and adjacent socket sites

System	Implant site <sup>†</sup> (I–Bc)	Implant site (L–B)	Adjacent socket site (L–B)
One piece	2.30 (0.85)*	0.79 (0.40)	1.29 (1.00)*
Two piece	2.30 (1.33)	1.05 (0.65)	1.43 (1.04)

\*Statistically significant difference.  $p < 0.05$ .

<sup>†</sup>Absolute value.

I–Bc, distance from the implant shoulder/rough-polished surface (I) and the marginal bone crest (Bc); L–B, relative bone loss between the marginal portion of the lingual (L) and buccal (B) bone crest at implant sites and adjacent socket sites. (mean and SD mm).

Table 4. Percentage of woven bone formation within the socket

%	Coronal	Medium	Apical	Total mean
Mean	57	43	34	45
SD	11	18	20	14
Max	76	79	85	72
Min	37	15	12	23

bone remodelling. Vignoletti et al. (2009), however, reported a stable position of the lingual bone crest during the early events of healing after immediate implant placement into fresh extraction sockets. They evaluated the lingual bone crest position at 4 h, 1, 2, 4 and 8 weeks of healing reporting a distance of 0.73 (SD 0.24), 0.60 (SD 0.16), 0.71 (SD 0.31), 0.25 (SD 0.46) and 0.63 (SD 0.18) mm, respectively.

Furthermore, data reported from baseline observations of immediate implants, provided evidence that the mean vertical level difference between buccal and lingual bone plates were 0.7 and 0.4 mm in the articles by Araujo et al. (2006) and Vignoletti et al. (2009) respectively. These values are consistent with observations from another animal experiment on socket preservation that compared a graft technique, with spontaneous healing of the socket and chose the tooth as control (Araujo et al. 2008). The corresponding value at the tooth site was 0.6 (SD 0.1) mm. Hence, it may be assumed that the mean vertical level difference between buccal and lingual bone crests reaches 0.5 mm approximately.

In light of these shortcomings with the methods used for evaluating the buccal bone level changes, not only in this investigation, but also in the reported scientific literature, the results obtained in this investigation must be interpreted with caution.

The distance between the marginal buccal and lingual bone crests (LB) was smaller in sites with immediate implants [0.92 (SD 0.5) mm] than in sites with spontaneous healing (edentulous) [1.20 (SD 0.76) mm], although these differences were not statistically significant. In the sites with immediate implants, however, the absolute buccal bone loss (distance between the implant shoulder and the bone crest) was significantly higher [2.32 (SD 0.36) mm] than the corresponding relative measurement in the socket sites [1.20 (SD 0.76) mm], evidencing a marked bone resorption at the buccal aspect of the implant sites.

Since no fixed landmark in the edentulous sites is available, the results are not fully comparable. It must be assumed from historical controls in the literature that the lingual bone crest suffers minor changes (approximately 0.5 mm) after tooth extraction and therefore, the reported level differences between the buccal and lingual bone plates should be approximately 0.5 mm. To extrapolate the absolute buccal bone loss at socket sites, the two historical controls (–0.5 mm of lingual bone crest resorption and 0.5 mm difference between buccal and lingual bone crests) must be considered together with the measured relative buccal bone loss, adding to approximately 1 mm of buccal bone resorption in this investigation. Although these assumptions must be considered with caution, an interpretative intent of analysis of these results when compared to the implant sites may suggest that more pronounced apical shifts of the buccal and lingual bone crest occur at the implant sites. One more factor to consider is the fact that multiple extractions have been performed in the present experimental model and some studies showed a higher vertical resorption

compared to that reported for single tooth extraction, both at extraction sockets alone (Johnson 1969) and at immediate implant placement sites (Botticelli et al. 2006).

When the implant sites were grouped according to their geometry (one versus two-piece), no intra-group nor inter-group significant differences were observed, although the one-piece implants (Straumann and Thommen) demonstrated a significantly higher buccal bone resorption when compared to relative buccal bone loss at the adjacent control sites (Table 3). Straumann implants have a tulip-shaped one-piece design with a 1.8 mm polished collar, while Thommen implants have only a 1 mm polished cylindrical collar. When comparisons between test and control sites were assessed for each implant system, no intra-group nor inter-group significant differences were observed in terms of relative bone loss. Only the Straumann system demonstrated a significantly higher absolute vertical bone resorption when compared to the adjacent control site (Table 2). These findings may suggest that although the implant geometry/surface did not seem to influence the amount of resorption observed at the buccal bone plate after their immediate placement in the fresh extraction socket (de Sanctis et al. 2009), it may influence the healing process when compared to the adjacent control socket that healed spontaneously. The buccal crest resorption observed at Straumann implant sites was 2.95 (1.79) mm, while the corresponding values of relative bone loss at the adjacent sites was 0.94 (0.58) mm. The reason for these differences are currently not understood, although a possible explanation may be due to the tulip-shape of the transmucosal portion of this implant system that may promote bone remodelling.

From an histomorphometrical point of view, spontaneous healing of sockets 6 weeks after tooth extraction, consisted of new mineralized tissue [45% (SD 14)] filling the alveolar bone walls and the formation of a cortical bone bridge at the coronal part. These results are in agreement with the initial phase of bone modelling/remodelling described by Cardaropoli et al. (2003) who studied the alveolar socket healing dynamics and

reported at 2, 4 and 8 weeks after tooth extraction a 48% (SD 29.4), 88% (SD 8.7) and 23% (SD 15.2) of mineralized bone, respectively.

The relative buccal bone resorption observed in the sites with spontaneous healing (1.20 mm) was lower than the 2.2 mm reported by Araujo et al. (2005) in a similar experimental study. This investigation also compared the healing of sockets left to heal spontaneously *versus* those where implants were placed, although this study evaluated the histological outcomes after 3 months of healing and the sockets were located in different jaws. In this investigation, the amount of buccal resorption in both sites was similar. Another study from the same research group evaluated the dynamics of bone healing at fresh extraction sockets 1, 2, 4 and 8 weeks after tooth extraction (Araujo & Lindhe 2005). The relative vertical bone resorption reported at the end of the study was 1.9 (SD 0.2) mm, again more pronounced than in the results reported in this investigation. The lesser buccal bone resorption observed in the present investigation may be attributed to different factors such as the age of the dogs, the different healing periods or surgical trauma. Most likely the earlier healing period of the present study may be the most critical factor responsible for this difference.

The mean amount of buccal bone resorption observed at the implant sites was in agreement with data reported in similar experimental studies (Araujo et al. 2005, Caneva et al. 2010c). Data from the literature are rather heterogeneous, probably due to lack of standardization in the critical factors influencing the process of buccal bone remodelling, such as the presence of a gap between the implant surface and the buccal socket wall and the thickness of the buccal bone plate. In fact, other experimental studies have shown that the wider the socket diameter, the lesser is the amount of buccal bone resorption (Araujo et al. 2006, Vignoletti et al. 2009). Other factors, such as the position of the implant in relation to the alveolar bone crest (Caneva et al. 2010b) as well as the influence of the implant design have also been investigated in experimental studies.

Implants with a 3.3 mm diameter and 0.8 mm polished collar were compared to conical implants of 5.0 mm diameter. The results showed that root formed implants promoted more buccal bone resorption than the standard cylindrical implants (Caneva et al. 2010c). Recent clinical studies have also confirmed these results demonstrating that the thickness of the buccal bone plate and dimension of the gap between the implant surface and the inner portion of the socket wall are key factors influencing the remodelling of the buccal socket wall after implant placement (Ferrus et al. 2010, Sanz et al. 2010). These factors, such as the placement of the implant in a more lingual position that allows a wider space between the implant surface and the bone crest, might have prevented the buccal supraalveolar exposure of the implant shown in this investigation.

In summary, the histometric results from this 6 weeks animal experimental study have shown that the buccal socket wall undergoes bone resorption in both the sockets healing spontaneously and in those where an implant was immediately inserted. The limitations within this experimental model and the utilized histometric analysis do not allow us to draw a definite conclusion, but if we combined data from historical controls reported in the literature and the data from this investigation, we could imply that buccal bone resorption was more pronounced at the implant sites, which may suggest that placement of implants in fresh extraction sockets not only does not counteract the remodelling of the socket walls, but eventually, it may contribute towards a more pronounced bone resorption at this early time point in healing. In future investigations, there is a need to standardize the methods for measuring the bone dimensional changes using fixed landmarks in baseline.

#### Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge the Department of Experimental Surgery at Gomez Ulla Hospital for their collaboration in the experimental surgeries and also wish to express their gratitude to Thommen Medi-

cal, AG, Switzerland for partially supporting this investigation.

#### References

- Aimetti, M., Romano, F., Baima Griga, F. & Godio, L. (2009) Clinical and histologic healing of human extraction sockets filled with calcium sulfate. *The International journal of oral & maxillofacial implants* **24**, 902–9.
- Anneroth, G., Hedstrom, K. G., Kjellman, O., Kondell, P. A. & Nordenram, A. (1985) Endosseous titanium implants in extraction sockets. An experimental study in monkeys. *International Journal of Oral Surgery* **14**, 50–54.
- Araujo, M. G. & Lindhe, J. (2005) Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **32**, 212–218.
- Araujo, M. G. & Lindhe, J. (2009) Ridge alterations following tooth extraction with and without flap elevation: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **20**, 545–549.
- Araujo, M. G. & Lindhe, J. (2011) Socket grafting with the use of autologous bone: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **22**, 9–13.
- Araujo, M. G., Sukekava, F., Wennstrom, J. L. & Lindhe, J. (2005) Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **32**, 645–652.
- Araujo, M. G., Sukekava, F., Wennstrom, J. L. & Lindhe, J. (2006) Tissue modeling following implant placement in fresh extraction sockets. *Clinical Oral Implants Research* **17**, 615–624.
- Araujo, M., Linder, E., Wennstrom, J. & Lindhe, J. (2008) The influence of Bio-Oss Collagen on healing of an extraction socket: an experimental study in the dog. *Int J Periodontics Restorative Dent* **28**, 123–135.
- Barzilay, I., Graser, G. N., Iranpour, B., Natiella, J. R. & Proskin, H. M. (1996) Immediate implantation of pure titanium implants into extraction sockets of Macaca fascicularis. Part II: histologic observations. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* **11**, 489–497.
- Blanco, J., Nunez, V., Aracl, L., Munoz, F. & Ramos, I. (2008) Ridge alterations following immediate implant placement in the dog: flap versus flapless surgery. *Journal of Clinical Periodontology* **35**, 640–648.
- Botticelli, D., Persson, L. G., Lindhe, J. & Berglundh, T. (2006) Bone tissue formation adjacent to implants placed in fresh extraction sockets: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **17**, 351–358.
- Caneva, M., Botticelli, D., Salata, L. A., Souza, S. L., Bressan, E. & Lang, N. P. (2010a) Flap vs. "flapless" surgical approach at immediate implants: a histomorphometric study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **21**, 1314–1319.
- Caneva, M., Salata, L. A., de Souza, S. S., Baffone, G., Lang, N. P. & Botticelli, D. (2010b) Influence of implant positioning in extraction sockets on osseointegration: histomorphometric analyses in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **21**, 43–49.
- Caneva, M., Salata, L. A., de Souza, S. S., Bressan, E., Botticelli, D. & Lang, N. P. (2010c) Hard tissue formation adjacent to implants of various size and configuration immediately placed into extraction sockets: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **21**, 885–890.

- Cardaropoli, G., Araujo, M. & Lindhe, J. (2003) Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology* **30**, 809–818.
- Donath, K. & Breuner, G. (1982) A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Sage-Schliff (sawing and grinding) technique. *Journal of Oral Pathology* **11**, 318–326.
- Ferrus, J., Cecchinato, D., Pjetursson, E. B., Lang, N. P., Sanz, M. & Lindhe, J. (2010) Factors influencing ridge alterations following immediate implant placement into extraction sockets. *Clinical Oral Implants Research* **21**, 22–29.
- Fickl, S., Zuhr, O., Wachtel, H., Bolz, W. & Huerzeler, M. (2008) Tissue alterations after tooth extraction with and without surgical trauma: a volumetric study in the beagle dog. *Journal of Clinical Periodontology* **35**, 356–363.
- Hammerle, C. H., Chen, S. T. & Wilson, T. G. Jr (2004) Consensus statements and recommended clinical procedures regarding the placement of implants in extraction sockets. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* **19** (Suppl.), 26–28.
- Johnson, K. (1969) A study of the dimensional changes occurring in the maxilla following tooth extraction. *Australian Dental Journal* **14**, 241–244.
- Karabuda, C., Sandalli, P., Yalcin, S., Steflik, D. E. & Parr, G. R. (1999) Histologic and histomorphometric comparison of immediately placed hydroxyapatite-coated and titanium plasma-sprayed implants: a pilot study in dogs. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* **14**, 510–515.
- Karnovsky, M. J. (1965) A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* **27**, 137A–138A.
- Paolantonio, M., Dolci, M., Scarano, A., d'Archivio, D., di Placido, G., Tumini, V. & Piattelli, A. (2001) Immediate implantation in fresh extraction sockets. A controlled clinical and histological study in man. *Journal of Periodontology* **72**, 1560–1571.
- de Sanctis, M., Vignoletti, F., Discepoli, N., Zucchelli, G. & Sanz, M. (2009) Immediate implants at fresh extraction sockets: bone healing in four different implant systems. *Journal of Clinical Periodontology* **36**, 705–711.
- Sanz, M., Cecchinato, D., Ferrus, J., Pjetursson, E. B., Lang, N. P. & Lindhe, J. (2010) A prospective, randomized-controlled clinical trial to evaluate bone preservation using implants with different geometry placed into extraction sockets in the maxilla. *Clinical Oral Implants Research* **21**, 13–21.
- Vignoletti, F., Johansson, C., Albrektsson, T., de Sanctis, M., San Roman, F. & Sanz, M. (2009) Early healing of implants placed into fresh extraction sockets: an experimental study in the beagle dog. De novo bone formation. *Journal of Clinical Periodontology* **36**, 265–277.
- Wilson, T. G. Jr, Schenk, R., Buser, D. & Cochran, D. (1998) Implants placed in immediate extraction sites: a report of histologic and histometric analyses of human biopsies. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants* **13**, 333–341.

Address:  
 Fabio Vignoletti  
 Facultad de Odontología  
 Universidad Complutense de Madrid  
 Plaza Ramón y Cajal  
 28040 Madrid  
 E-mail: fabiovignoletti@odon.ucm.es

#### Clinical Relevance

*Scientific rationale for the study:* Immediate implant placement after tooth extraction is a common surgical protocol in clinical practice. Limited information is available, however, on the influence that this surgical protocol may have on the healing process when compared with the spontaneous healing of the sockets.

*Principal findings:* Marked resorption of the buccal plate was observed at both implant and edentulous sites. However, although strong limitations are inherent to the evaluation method, results from the histological outcomes, may suggest approximately twice the amount of buccal bone resorption at implant sites.

*Practical implications:* The placement of a dental implant immediately

upon tooth extraction may jeopardize the socket spontaneous healing in the early stages of bone remodeling. Further research is needed to improve the histological evaluation methods and allow a more comprehensive understanding of this biological process.

# Early healing of the alveolar process after tooth extraction: an experimental study in the beagle dog

Nicola Discepoli<sup>1</sup>, Fabio Vignoletti<sup>1</sup>,  
Luigi Laino<sup>2</sup>, Massimo de Sanctis<sup>3</sup>,  
Fernando Muñoz<sup>4</sup> and Mariano Sanz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Postgraduate Periodontology, University Complutense of Madrid, Madrid, Spain; <sup>2</sup>Department of Oral Surgery, University of Naples, Naples, Italy; <sup>3</sup>Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche, Università degli Studi di Siena, Siena, Italy; <sup>4</sup>School of veterinary of Lugo, University of Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain

Discepoli N, Vignoletti F, Laino L, de Sanctis M, Muñoz F, Sanz M. Early healing of the alveolar process after tooth extraction. An experimental study in the beagle dog. J Clin Periodontol 2013; 40: 638–644. doi: 10.1111/jcpe.12074.

## Abstract

**Aim:** To describe the early healing events in the alveolar socket during the first 8 weeks of spontaneous healing after tooth extraction.

**Materials and Methods:** 16 adult beagle dogs were selected and five healing periods were analysed (4 h, 1 week, 2 weeks, 4 weeks, 8 weeks). Mandibular premolars were extracted and each socket corresponding to the mesial root was left to heal undisturbed. In each healing period, three animals were euthanatized, each providing four study sites. Healing was assessed by descriptive histology and by histometric analysis using as landmarks: the vertical distance between buccal and lingual crest (B'L') and the width of buccal and lingual walls at three different levels. Differences between means for each variable for each healing period were compared (ANOVA;  $p < 0.05$ ).

**Results:** B'L' at baseline was 0.45 (0.18) mm and decreased during the healing period to a final value of 0.18 (0.08) mm. The lingual width (Lw) remains almost unchanged while the buccal width (Bw) at 1 (Bw1) and 2 (Bw2) mm was reduced in about 40% of its initial value.

**Conclusions:** Minor vertical bone reduction in both the buccal and lingual socket walls were observed. A marked horizontal reduction of the buccal bone wall was observed mostly in its coronal aspect.

Key words: bone modelling and remodelling; socket healing; woven bone

Accepted for publication 27 December 2012

The alveolar process is a tooth-dependent bone structure that develops in conjunction with the process of tooth

## Conflict of interest and source of funding

The authors declare that they have no conflict of interest.  
The study has been supported by a research grant from Biomet 3i.

eruption. When teeth are lost or extracted, a concomitant process of bone modelling and remodelling results in significant changes in both the width and height of the resulting alveolar crest, being the buccal wall more affected than the lingual/palatal wall. These morphologic changes in the alveolar ridge were investigated in the sixties to accurately design the appropriate prosthetic rehabilitation

(Pietrokovski & Massler 1967, Amler 1969). The precise histological events, however, have been identified recently in well-designed pre-clinical models (Cardaropoli et al. 2003, Araujo & Lindhe 2005).

These studies have described a cascade of events occurring immediately after tooth extraction starting with the formation and maturation of a blood clot in the interior of the

socket. This blood clot in direct contact with the mineralized socket bone walls is soon replaced by a provisional connective tissue matrix, which is progressively converted after 2 weeks of healing into woven bone, lamellar bone and bone marrow. In this pre-clinical model after 60 days of healing the coronal opening of the socket is filled with a bridge of cortical bone, thus forming a continuous alveolar ridge (Cardaropoli et al. 2003, Araujo & Lindhe 2005, Petrokovski et al. 2007). In this ridge the height of the mesio-distal dimension is fully preserved, mainly when the adjacent teeth are present as their periodontal ligament will always preserve the mesial and distal bone levels (Cardaropoli et al. 2003). The bucco-lingual dimension, however, will suffer significant volume alterations during the first months of healing, mainly affecting the most coronal third of the alveolar process (Araujo et al. 2006, 2008). The early healing events in the alveolar ridge were studied by Araujo et al. (2005) in mongrel dogs. They reported at 8 weeks a mean vertical reduction of the buccal bone crest of 2.2 (SD 0.2) mm, relative to the initial position of the lingual bone crest. Although this healing pattern has been corroborated in other pre-clinical studies (Araujo et al. 2005), the reported dimensional bone changes have varied. In fact, in a recent experimental investigation from our research group (Vignoletti et al. 2012), the mean distance between the most coronal aspect of the buccal and lingual bone walls was 1.2 (0.76), which is half the resorption reported earlier albeit a discrepancy exists as regard the different healing periods considered. Similarly, a recent study evaluating different socket preservation techniques in beagle dogs (Bashara et al. 2011) assessed the healing of extraction sockets using radiographic linear measurements. They reported at 6 months post-extraction a mean distance between the buccal and lingual crest of 0.7 mm (SD 0.35). This heterogeneity in the patterns of alveolar bone resorption after tooth extraction has also been reported in clinical human studies (Schropp et al. 2003). In light of these conflicting results, it was the purposes

of this investigation to describe the histological early healing events in the alveolar socket after tooth extraction and to measure histometrically the vertical and horizontal bone changes that occur in the bone walls.

#### Materials and Methods

This investigation was designed as a prospective, examiner blind experimental study in beagle dogs evaluating five healing periods after tooth extraction, from 4 h to 8 weeks.

#### Sample and facilities

The experimental phase was carried out at the Centre of Experimental Surgery in the Hospital "Gomez-Ulla", Madrid, Spain, once the Regional Ethics Committee for Animal Research approved the study protocol.

The sample consisted of 16 female adult beagle dogs with a mean age of 1.5 years and a weight ranging between 10 and 20 kilograms. During the study all necessary measures to minimize pain and discomfort for the experimental animals were taken, in accordance with the European Communities Council Directive (86/609/EEC). These dogs were housed in appropriate cages, fed on a soft pellet diet and maintained under a mechanical plaque control measures three times per week, consisting on gentle brushing with toothpaste.

#### Surgical procedure

The surgical protocol was described in previous publications reporting the outcome of implants immediately placed in fresh extraction sockets (Vignoletti et al. 2009a,b,c). Briefly, once the animals were sedated using 80 µg/kg of Medetomidine plus 20 µg/kg of Butorfanol and 100 µg/kg of Atropine Sulphate, they were placed under general anaesthesia and maintained under mechanical induced respiration throughout the surgery. Buccal and lingual intra-sulcular incisions were performed from mesial of the third premolars 3P3 to mesial of the first molars 1M1 on both sides of the mandible and muco-periosteal full thickness flaps were raised. Teeth 3P3 and 4P4 were

hemisected and extracted aiming to preserve the integrity of the socket walls. While in the distal sockets of each two-rooted premolar, implants were immediately inserted, the mesial sockets left heal undisturbed and used for this investigation. Flaps were then repositioned and secured with resorbable interrupted suture (Vicryl® 4.0, Johnson & Johnson, St-Stevens-Woluwe, Belgium) closing the opening of the sockets that healed spontaneously and therefore, allowing for primary wound healing. Dogs were placed in a plaque control regimen during the entire experimental period.

Each animal provided four socket healing sites and five healing periods were evaluated: baseline (4 h) and 1, 2, 4 and 8 weeks after teeth extraction. In each of these healing periods, three animals were euthanatized, providing 12 sites, except for the 8-week period that affected four dogs and 16 sites.

#### Histological processing

Animals were euthanatized by perfusion through the carotid artery with a fixative solution (Karnovsky, 1965). Tissue blocks containing the extraction socket of the mesial root of each premolar were dissected and placed in the fixative. The specimens were dehydrated in graded series of ethanol and embedded in resin (LR White resin; London resin Company, Berkshire, UK and Technovit 7200 VLC; Heraeus Kulzer). Blocks were cut in a bucco-lingual plane using a cutting grinding unit (Exact®, Nordstedt, Germany). For proper alignment of the cutting procedure, a radiograph was taken at each extraction site, identifying the profile of the alveolar ridge and thus allowing the identification of the central bucco-lingual section, which was reduced to a final thickness of about 20 µm and polished using a micro-grinding unit (Exact®). These sections were then stained using the Levai Laczko staining method.

#### Histological examination

The histological sections were examined under a light microscope (Nikon Ti microscope, Nikon®, Heidelberg, Germany) equipped with a 10× magnification ocular and 10–40× objec-

tives. Four bucco-lingual sections per animal were investigated, digital micrographs were obtained through a digital camera connected to the microscope and analysed using an image analysis software (Q-500 MC; Nikon). Tissular changes at the experimental sites were observed and described by two trained and calibrated examiners (ND; LL), blinded with respect to the different healing periods.

#### Histometric analysis

The dimensional changes and healing dynamics of the alveolar buccal and lingual bone walls were assessed according to a method previously described by Araujo & Lindhe (2005). Thus, the following landmarks were used for the linear measurements (Fig. 1b):

- A reference line (C-C) parallel to the long axis of the socket was drawn in the centre of the section.
- Two horizontal lines (LL' and BB') perpendicular to C-C were drawn to project the most coronal portions of the buccal and lingual bone crest to C-C.
- The vertical distance between the intersections of BB' and LL' with C-C (B'L' distance) was measured and expressed in mm (Fig. 1b).
- The width of the buccal and lingual bone walls was assessed at three different levels: w1, w2 and w3 (Fig. 1a) corresponding to

levels allocated, respectively, 1, 2 and 3 mm apical to the most coronal lingual bone crest. (Fig. 1a)

#### Morphometric analysis

To perform this analysis the alveolar socket was divided into three thirds (Fig. 1c):

- Zone A: the coronal third
- Zone B: the intermediate third
- Zone C: the apical third

In each experimental zone, the relative areas occupied by mineralized bone (MB) (woven bone, parallel fibered bone and lamellar bone) were determined and expressed as a % of the total area.

#### Data analysis

The data from the histometric and morphometric evaluation were entered into an Excel (Microsoft Office 2010) database and assessed for entry errors. This database was then exported into the statistical software Prism 5.0 (GraphPad, San Diego, CA, USA) for data analysis. Mean values and standard deviations for each outcome variable were calculated and expressed for each dog, which was considered the "statistical unit" of analysis. Differences between means for each healing period were compared using the one-way ANOVA and were considered statistically significant when  $p < 0.05$ .

#### Results

All extraction sites healed uneventfully and all animal units ( $n = 16$ ) completed the healing period specific for the group they were randomly allocated (4 h, 1 week, 2 weeks, 4 weeks, 8 weeks). One central bucco-lingual ground section per edentulous site was available. Hence, a total of 64-ground sections were available for histomorphometrical analysis.

#### Histological findings

At 4 h (baseline) after tooth extraction the socket was largely occupied by a blood clot (Fig. 2a,b) where a group of cells, probably compatible with inflammatory cells and erythrocytes, were embedded in a fibrin mesh and in contact with the Sharpey's fibres severed during the process of tooth extraction (Fig. 2c).

The lingual socket wall was thicker and in a more coronal position than its buccal counterpart, which showed in some sections presence of adaptive changes ("buttressing bone") (Fig. 2a). The internal side of both bone crests demonstrated the presence of varying thickness of bundle bone (Fig. 2b), whereas the outer surface was comprised of compact lamellar bone.

At 1 week the alveolar socket walls were characterized histologically by an extensive process of remodelling in both their outer and inner bone crests, with presence of large number of multinucleated cells (according to their morphology they could be defined osteoclasts). In the interior of the socket, the blood clot had been gradually resorbed (coagulative necrosis) (Fig. 2d) and replaced by an immature connective tissue ("provisional matrix"), characterized by presence of large number of small vessels (neo-angiogenesis) and poorly organized collagen fibres (fibro-plasia) (Fig. 2e). Small isolated islands of new mineralised tissue (woven bone) could be identified in close vicinity with the newly formed vessels (Fig. 2f).

At 2 weeks the activity promoted by multinucleated cells (as previously defined as osteoclasts) was more manifested (Fig. 3b), mainly in the inner side of the lingual and buccal

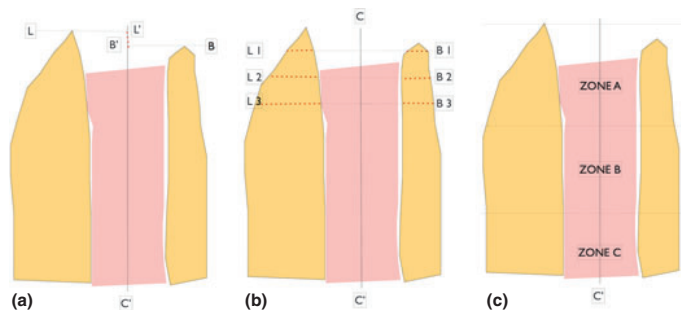


Fig. 1. (a) Vertical linear measurements between lingual and buccal crest (B'-L'). (b) Histometric measurements of the width's crest at three different levels at buccal (B1, B2, B3) and lingual crest (L1, L2, L3), 1, 2, 3 mm from the most coronal point of the lingual crest. (c) alveolar socket was divided into three equivalent areas, starting from the most coronal point of the lingual crest (A, B, C) to perform histomorphometric analysis.

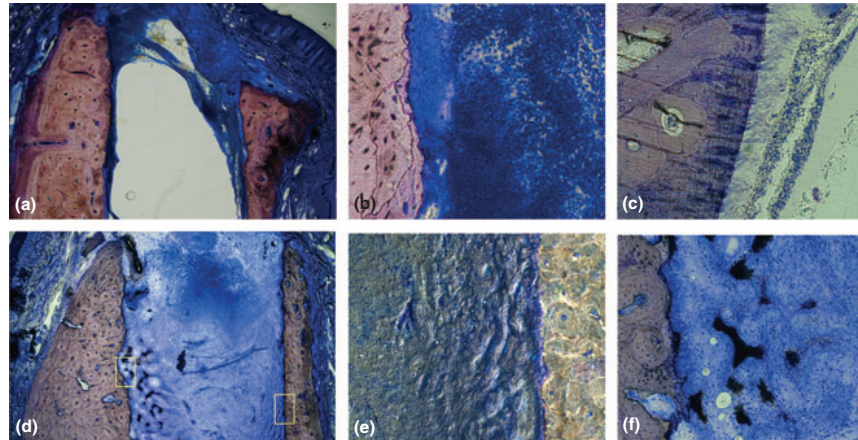


Fig. 2. (a) Socket at 4 hours healing (baseline). Adaptive morphological changes are noticeable at the buccal crest (Buttressing Bone). Original magnification  $\times 10$  (b) After tooth extraction the space created is largely occupied by a large amount of cells that could be interpreted as erythrocytes and inflammatory cells (4 hours). (c) Bundle bone with Sharpey's fibres severed during extraction in intimate contact with blood clot (4 hours). (d) At 1-week blood clot degenerates and areas of coagulative necrosis appear. Original magnification  $\times 10$ . (e) Detail of figure (inner surface of the buccal crest) (d); organization of connective tissue bundles (polarized light microscope) that characterized the "Provisional Matrix" at 1 week healing period. (f) Detail of figure d: (inner surface of the lingual crest) small areas of mineralised tissue develop around new vessels. Original magnification  $\times 20$ .

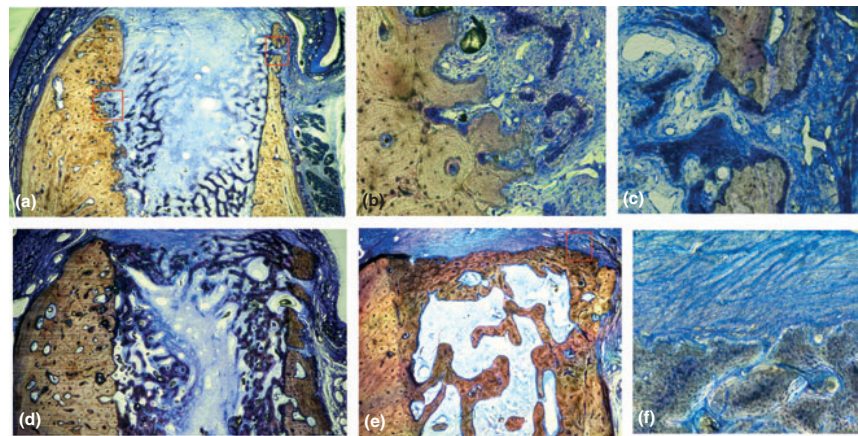


Fig. 3. (a) Two weeks socket in which re-modelling is well represented and is mainly concentrated in the inner part of lingual plate. Original magnification  $\times 10$ . (b) Detail of figure (a): referred to the inner surface of the lingual crest: a gigantic multinucleate cell (according to its morphology can be traced as an osteoclast) in its lacunae in the lingual wall. Original magnification  $\times 20$ . (c) Detail of 2 weeks specimen in which flattened cells (in this context supposedly osteoblasts) are aligned around buccal cortical bone (referred to the buccal crest). Original magnification  $\times 20$ . (d) 4 weeks socket: the amount of woven bone is increasing (e) 8 weeks socket: a well-defined process of corticalization is evident original magnification  $\times 10$ . (f) detail of figure e referred to the socket entrance: well-organized collagen bundles inserts on top of the new formed cortical bone ("periosteum like structure"). Original magnification  $\times 20$ .

bone walls and in those areas where bundle bone was present (Fig. 3a,b). This bundle bone was still manifest in the coronal part of the buccal bone crest outlining the former periodontal ligament. The main

characteristic of this healing period was the presence of large quantities of mineralised tissue (woven bone) (Fig. 3c) filling the interior of the socket from the lateral/apical end toward its most coronal part.

At 4 weeks the woven bone had filled all the inside of the socket and was undergoing remodelling changes evidenced by the presence of multinucleated cell on its surface and the incipient formation of lamellar bone

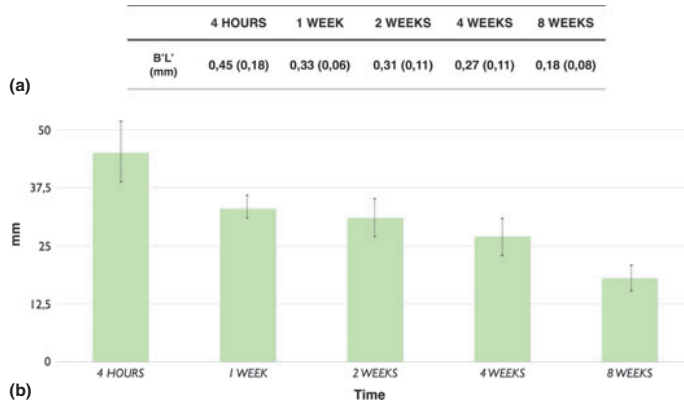


Fig. 4. (a) Table shows results from histometric measurements (mean(SD)) of vertical distance B'L' in mm at the five healing periods.(b) The histogram represents the B'L' value at different healing period. Distances are presented in mm and the bar represents the standard deviation of each value. ANOVA;  $p = 0.1032$ .

(Fig. 3d). The apical portion of the socket was also characterized by the formation of an initial (“primitive”) bone marrow (BM).

At 8 weeks the coronal part of the socket was closed by the formation of a hard tissue bridge (“corticalization”) (Fig. 3e). On the top of this new hard tissue structure, well-organized collagen bundles anchored to the bone lamella formed a “periosteum like” structure (Fig. 3f). In the apical compartment of the socket (Zone C) the presence of bone marrow was evident.

**Histometric results**

The vertical linear distance B'L' represents the relative vertical resorption of both buccal and lingual crests during healing process. Four hours after the surgery this distance was 0.45 (SD 0.18) mm. Fig. 4 depicts the changes of this dimension during healing showing a progressive reduction

reaching 0.18 (SD 0.08) mm at 8 weeks (Fig. 4). When the changes in this dimension were compared during the five healing periods, no statistically significant differences were observed (ANOVA;  $p = 0.1032$ ) thus depicting a similar resorption pattern in both bone walls. Table 1 shows the horizontal changes in the buccal and lingual bone crests at three different levels apico-coronally. In all the examination periods and at each of the three levels, the lingual crest was wider than the buccal bone crest. In the buccal crest, the mean percentage of bone width resorption between baseline and 8 weeks at w1, w2 and w3 was 43%, 39% and 15% respectively (Table 2; Fig. 5). Conversely, no variation in width was observed at the lingual bone crest at Lw1 and Lw2 after 8 weeks of healing in comparison with baseline (4 hours). A reduction of 11% was observed at Lw3 (Table 1) (Fig. 5). These differences, however,

Table 1. The table shows the results from the histometric measurements (mean(SD)) regarding the horizontal width at 1, 2, 3 mm apical to the most coronal lingual bone crest: (a) buccal bone wall (Bw1, Bw2, Bw3). (b) lingual bone wall (Lw1,Lw2,Lw3). No intra-group statistical significant differences were detected (one-way ANOVA)

	4 hours	1 week	2 weeks	4 weeks	8 weeks
(a)					
Bw 1	0.43 (0.14)	0.43 (0.02)	0.40 (0.19)	0.35 (0.11)	0.25 (0.19)
Bw 2	0.55 (0.32)	0.49 (0.19)	0.57 (0.25)	0.55 (0.19)	0.34 (0.15)
Bw 3	0.75 (0.58)	0.59 (0.21)	0.64 (0.27)	0.81 (0.19)	0.64 (0.19)
(b)					
Lw 1	1.05 (0.33)	1.18 (0.26)	1.08 (0.25)	1.24 (0.20)	1.07 (0.30)
Lw 2	1.38 (0.29)	1.65 (0.28)	1.38 (0.20)	1.58 (0.25)	1.33 (0.21)
Lw 3	1.72 (0.34)	1.82 (0.17)	1.55 (0.13)	1.71 (0.29)	1.53 (0.24)

were not statistically different (one-way ANOVA).

**Histomorphometric results**

Depending on the apico-coronal third of the socket (Fig. 2c), at 2 weeks the presence of woven bone ranged from 18.65% in coronal third (zone A) to 59.44% in the apical third (Zone C) (Table 2). In this Zone A the new mineralized tissue formation reached its plateau at 4 weeks (42.17%) and then remained stable up to 8 weeks of healing (47.80%). In the Zone C the mineralized tissue at 2 weeks was double (59.44%) than at 8 weeks (31.56%) when most of the compartment was comprised of bone marrow (Table 2).

**Discussion**

The present investigation was aimed to describe the early healing events occurring in the alveolar socket immediately after tooth extraction. When evaluating the apico-coronal changes occurring in both the buccal and lingual bone crests, this study has shown that both the buccal and the lingual bone crests similarly reduced progressively their vertical dimension during the 8-week evaluation period. At 4 h the buccal bone crest was 0.4 mm apical to the lingual crest, while at 8 weeks this distance was only 0.18 (SD 0.08) mm. These findings are in contrast with previous experimental investigations. Araujo et al. (2005) reported at 2 months a distance between the lingual and buccal bone walls of 1.9 (SD 0.2) mm. These authors reported that whereas the lingual bone remained almost unchanged, a marked apico-coronal reduction of the buccal bone crest occurred, and this finding was attributed to the loss of bundle bone in the narrower buccal bone crest, resulting

Table 2. The table shows the results of the morphometric analysis. The percentages define the volume of new mineralised tissue (woven bone and lamellar bone) at various healing period within the three different areas of the socket (Zone A: Coronal; Zone B: Intermediate; Zone C: Apical)

	2 weeks %	4 weeks %	8 weeks %
Zone A	18.65	42.17	47.80
Zone B	35.90	29.30	37.60
Zone C	59.44	23.20	31.56

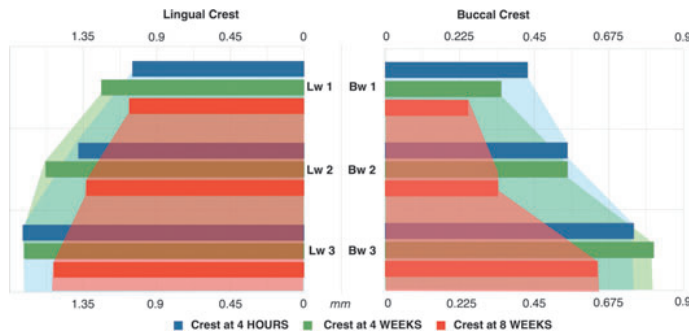


Fig. 5. Schematic drawing explaining the modifications of the width of buccal and lingual crest during the 8 weeks of healing. Shaded area represents the volume of the crest at three different intervals healing taking in to account in this graphic (Baseline; 4 weeks; 8 weeks). At the right side is depicted the profile of the buccal crest and at the left side that of the lingual crest. The final area of the crest is coloured with red (8 weeks).

in significant resorptive changes. Fickl et al. (2008) evaluated different socket preservation therapies after flapless extractions in the beagle dog model and reported a mean difference between lingual and buccal bone crests of 3.2 (0.2) mm in the control group (spontaneous healing) after 4 months. Similarly, a recent experimental study from our research group reported a B'L' distance of 1, 2 (SD 0.76) mm after 6 weeks of healing (Vignoletti et al. 2012). The heterogeneity in these results probably reflects differences in the anatomy of the residual bone walls after tooth extraction among the various dog breeds use in those studies, which may influence the process of bone modelling and remodelling of the socket. In fact, we have observed a variable presence of bundle (BB) and lamellar bone (LB) at both buccal and lingual crests in different specimens. Furthermore, in several specimens a crestal bone tissue "rebound" was observed, consisting of woven bone replacing almost completely the original height of the crestal bone. This phenomenon has been previously described in the literature (De Sanctis et al. 1988, Qahash et al. 2008) and may be due to the high regenerative potential of the dog experimental model. Qahash et al. studied the dynamics of buccal bone remodelling after implant placement and reported a mean coronal rebound of 0.69 (SD 0.15) mm of the newly formed woven bone, with almost 30% of the sites exhibiting a complete "rebound" of the the buccal height (Qahash et al. 2008).

Although most of the experimental studies evaluating the healing of extraction sockets have reported significant vertical resorptive changes in the buccal bone crest, the evaluation of these changes is hampered by the absence of a fixed landmark. Most of the authors have used the lingual bone crest as the reference point, assuming that this crest remains stable, but we have shown in this investigation that both bone walls suffer vertical resorptive changes in similar proportions. In this experimental design we have used the 4 h specimens as our baseline reference to measure the distance between the buccal and lingual bone walls. At 1 week there was already a marked vertical reduction of the B'L' line of about 27% of its baseline value. This resorptive process continues in a lower relative magnitude, throughout the length of this study (8 weeks), without demonstrating a significant difference when comparing the buccal and lingual walls. A similar findings has been reported in a recent systematic review of clinical studies evaluating the healing of alveolar crests after tooth extraction showing a weighted mean vertical differences between the buccal and lingual crest of 0.36 mm (Van der Weijden et al. 2009). Albeit radiographs were taken to assess correctly the centre of the socket (CC), in the last phase of healing (8 weeks) difficulty in discerning the proper socket profile could have arisen, and so represented a limitation for the measurement of the B'L' value.

In this investigation we have also evaluated the horizontal resorptive

changes occurring in both the buccal and lingual alveolar walls after tooth extraction. Differently from the reported vertical resorptive changes, the lingual crest remained almost unchanged in width during the 8 weeks of the study. In contrast, the buccal crest suffered a significant reduction, mainly between the weeks 4–8, (about 40% of its initial width) in the most coronal third of the crest. These results are partially in contrast with those published by Araujo & Lindhe (2005) using a similar experimental design. They reported a 16% relative reduction of the buccal bone crest width, with linear reductions of 0.1 and 0.2 mm at 1 and 3 mm, respectively, from the marginal crest. These different relative results might also be due to the different reference points used in the histometric analysis. In the study by Araujo & Lindhe (2005) the reference at which the crest width was measured was the most coronal portion of both lingual and buccal bone crests, while in this investigation, we used the most coronal point of the lingual crest as the landmark to establish the three different levels (1, 2, 3 mm apical). The apical remodelling of the buccal bone wall described in Araujo & Lindhe (2005) is likely to have influenced the measure of the bucco-lingual dimension. Another possible factor could be the baseline width of the buccal bone crest. In this investigation 1 mm apical to the marginal lingual crest at 1 week, the buccal wall width was 0.43 (SD 0.02) mm, a 33% thinner than what was reported by Araujo & Lindhe. (0.6 mm at 1 week). A thinner buccal bone crest may foster bigger horizontal resorptive changes, as was reported by Tomasi et al. (2010) in a clinical trial in humans. In this study assessing the bone dimensional changes of implants immediately placed in fresh extraction sockets, the presence of buccal bone crests of  $\leq 1$  mm buccal generated a loss of buccal contour of about 50%, while in thicker buccal bone crest the resulting loss was of around 20%. Its worth to mention that the analysis of the dynamics of the width of the crests is based on a relative measure. So the value of the width that appears in every healing intervals depends, in our case, of the vertical remodelling of the lingual crest (taken as a reference). In this perspective landmarks shifts

apically, and by the anatomy of the ridge (much thicker more apical it is) it can offset some of the horizontal resorption occurred.

The histological sequence described in the current investigation coincides with the previous descriptions of similar experimental models (Cardaropoli et al. 2003, Araujo & Lindhe 2005). At the 4-weeks specimens, in the apical third of the socket the percentage of mineralized tissue decreased with the progressive formation of an immature bone marrow characterized by large marrow spaces, filled with vessels, adipocytes and mesenchymal cells. At 8-weeks the mean percentage of mineralized tissue within the sockets was only 39%; which is coincident with the results by Araujo et al. (2008), who reported at 3 months the presence of 50% of mineralized tissue within the socket.

One shortcoming of this investigation was the short study length as different authors have shown that the process of remodelling of the alveolar socket is not completed at 2 months (Araujo & Lindhe 2005, Trombelli et al. 2008). We could also identify in the 8-week specimens the presence of secondary osteons thus evidencing the continuous healing process.

In conclusion, this experimental study has described the early healing events within the alveolar socket and at the crestal bone walls after tooth extraction. This healing was characterized by vertical bone reduction in both the buccal and lingual walls and a marked horizontal reduction at the buccal bone wall in the most coronal aspect accounting for about 40% of its initial dimension.

#### Acknowledgements

Special thanks to Dr. Conchita Martin for her invaluable help and

for her cordiality during data analysis and statistical management.

#### References

- Amler, M. H. (1969) The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surgery, Oral medicine, and Oral Pathology* **27**, 309–318.
- Araujo, M. G. & Lindhe, J. (2005) Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **32**, 212–218.
- Araujo, M. G., Sukekava, F., Wennstrom, J. L. & Lindhe, J. (2005) Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **32**, 645–652.
- Araujo, M. G., Wennstrom, J. L. & Lindhe, J. (2006) Modeling of the buccal and lingual bone walls of fresh extraction sites following implant installation. *Clinical Oral Implants Research* **17**, 606–614.
- Araujo, M., Linder, E., Wennstrom, J. & Lindhe, J. (2008) The influence of Bio-Oss Collagen on healing of an extraction socket: an experimental study in the dog. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry* **28**, 123–135.
- Bashara, H., Wohlfahrt, J. C., Polyzois, I., Lyngstadaas, S. P., Renvert, S. & Claffey, N. (2011) The effect of permanent grafting materials on the preservation of the buccal bone plate after tooth extraction: an experimental study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **23**, 911–917.
- Cardaropoli, G., Araujo, M. & Lindhe, J. (2003) Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology* **30**, 809–818.
- De Sanctis, M., Cortellini, P., Clauser, C. & Pini Prato, G. P. (1988) Coronal displacement of the junctional epithelium and attachment gain following apically positioned flap with bone resective surgery in dogs. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry* **8**, 64–76.
- Fickl, S., Zuh, O., Wachtel, H., Bolz, W. & Huerzeler, M. B. (2008) Hard tissue alterations after socket preservation: an experimental study in the beagle dog. *Clinical Oral Implants Research* **19**, 1111–1118.
- Karnovsky, M. J. (1965) A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* **27**, 137A–138B.
- Petrokovski, J., Kaffe, I. & Arensburg, B. (2007) Retromolar ridge in edentulous patients: clinical considerations. *Journal of Prosthodontics* **16**, 502–506.
- Petrokovski, J. & Massler, M. (1967) Alveolar ridge resorption following tooth extraction. *Journal of Prosthetic Dentistry* **17**, 21–27.

- Qahash, M., Susin, C., Polimeni, G., Hall, J. & Wikesjö, U. M. (2008) Bone healing dynamics at buccal peri-implant sites. *Clinical Oral Implants Research* **19**, 166–172.
- Schropp, L., Wenzel, A., Kostopoulos, L. & Karring, T. (2003) Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry* **23**, 313–323.
- Tomasi, C., Sanz, M., Cecchinato, D., Pjetursson, B., Ferrus, J., Lang, N. P. & Lindhe, J. (2010) Bone dimensional variations at implants placed in fresh extraction sockets: a multilevel multivariate analysis. *Clinical Oral Implants Research* **21**, 30–36.
- Trombelli, L., Farina, R., Marzola, A., Bozzi, L., Lijenberg, B. & Lindhe, J. (2008) Modeling and remodeling of human extraction sockets. *Journal of Clinical Periodontology* **35**, 630–639.
- Van der Weijden, F., Dell'Acqua, F. & Slot, D. E. (2009) Alveolar bone dimensional changes of post-extraction sockets in humans: a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology* **36**, 1048–1058.
- Vignoletti, F., de Sanctis, M., Berglundh, T., Abrahamsson, I. & Sanz, M. (2009a) Early healing of implants placed into fresh extraction sockets: an experimental study in the beagle dog. II: ridge alterations. *Journal of Clinical Periodontology* **36**, 688–697.
- Vignoletti, F., de Sanctis, M., Berglundh, T., Abrahamsson, I. & Sanz, M. (2009b) Early healing of implants placed into fresh extraction sockets: an experimental study in the beagle dog. III: soft tissue findings. *Journal of Clinical Periodontology* **36**, 1059–1066.
- Vignoletti, F., Discepoli, N., Muller, A., de Sanctis, M., Munoz, F. & Sanz, M. (2012) Bone modelling at fresh extraction sockets: immediate implant placement versus spontaneous healing: an experimental study in the beagle dog. *Journal of Clinical Periodontology* **39**, 91–97.
- Vignoletti, F., Johansson, C., Albrektsson, T., De Sanctis, M., San Roman, F. & Sanz, M. (2009c) Early healing of implants placed into fresh extraction sockets: an experimental study in the beagle dog. De novo bone formation. *Journal of Clinical Periodontology* **36**, 265–277.

#### Address:

Nicola Discepoli  
Magister en Periodoncia  
Faculty of Odontology, University  
Complutense of Madrid, Plaza Ramón y  
Cajal s/n, 28040 Madrid, Spain  
E-mail: discepoli\_nicola@hotmail.it

#### Clinical Relevance

*Scientific rationale for the study:* The existing information on the healing of alveolar sockets after tooth extraction is very heterogeneous with varying reports in the magnitude of horizontal and vertical bone remodelling. It is, therefore, a need of more in depth

knowledge on the early healing events in the alveolar socket walls and the horizontal and vertical changes that occur after tooth extraction.

*Principal findings:* There was a limited vertical bone reduction in both buccal and lingual bone walls. Conversely, a marked horizontal remodelling

(40%) of the buccal bone occurred in the coronal third of the crest.

*Practical implications:* The knowledge on these dimensional changes will help the clinicians to develop appropriate treatment concepts to prevent this horizontal bone resorptive changes occurring after extracting a tooth.

Nicola Discepoli  
 Fabio Vignoletti  
 Luigi Laino  
 Massimo de Sanctis  
 Fernando Muñoz  
 Mariano Sanz

## Fresh extraction socket: spontaneous healing vs. immediate implant placement

### Authors' affiliations:

Nicola Discepoli, Fabio Vignoletti, Mariano Sanz, Postgraduate Periodontology, University Complutense of Madrid, Madrid, Spain  
 Luigi Laino, Department of Oral Surgery, Università Federico II, Naples, Italy  
 Massimo de Sanctis, Postgraduate Periodontology, Università degli Studi di Siena, Siena, Italy  
 Fernando Muñoz, School of Veterinary Sciences of the University of Santiago de Compostela, Lugo, Spain

### Corresponding author:

Dr Nicola Discepoli  
 Graduate Periodontology  
 Faculty of Odontology  
 University Complutense of Madrid  
 Plaza Ramón y Cajal s/n  
 28040 Madrid  
 Spain  
 Tel.: 0034 923941901  
 Fax: 0034 923941910  
 e-mail: ennc7926@hotmail.it

**Key words:** animal experiments, bone implant interactions, wound healing

### Abstract

**Aim:** To evaluate the impact that immediate implant placement may have on bone remodelling in comparison with adjacent sockets left to heal spontaneously.

**Materials and methods:** In a beagle dog model ( $N = 16$  dogs), mandibular premolars were extracted, and implants were placed in each distal socket (test) with the corresponding mesial site left to heal undisturbed (control). Healing was assessed measuring both the vertical distance between buccal and lingual crest (B'L') and the width of buccal and lingual walls at different levels. Five healing periods were evaluated. Differences between means for each variable and for each healing period between test and control were compared (Kruskal–Wallis test; Friedman test).

**Results:** At 2 and 8 weeks of healing, the B'L' distance revealed significant higher values at test compared to control sites, being this difference three times higher at the end of the study ( $P < 0.05$ ). In the test group, the width of the crest was reduced between baseline (0.37 [0.04]) and 8 weeks healing (0.13 [0.64]), demonstrating a 62% reduction of the initial width. These differences were not observed in the control group.

**Conclusions:** Immediate implant placement into fresh extraction sockets may jeopardize the vertical bone remodelling of the socket. Furthermore, a tendency towards greater buccal horizontal resorption was observed in the most coronal aspect of the buccal bone crest.

It has been clearly shown in both animal and clinical studies that following tooth loss/extraction, the alveolar process will suffer significant resorption and loss of volume (Petrokovski & Massler 1967; Araujo & Lindhe 2005). This physiologic healing process begins with the filling of the socket by a blood clot, which matures into a connective tissue matrix that will eventually become mineralized, first in woven and then into lamellar bone and bone marrow (Amler 1969; Cardaropoli et al. 2003; Trombelli et al. 2008). During this healing process, the loss of bundle bone will result in a reduced ridge, in both the vertical, although more marked in the horizontal dimension (Petrokovski & Massler 1967; Araujo & Lindhe 2005; Discepoli et al. 2013). To prevent this resorptive process, a therapeutic protocol, based on the immediate placement of a dental implant in the fresh extraction socket, was proposed and advocated (Hammerle et al. 2004). Its rationale was based on the idea that implants placed in close contact with the socket walls

will provide the needed function to prevent bone resorption (Denissen et al. 1993). This hypothesis, however, has not been validated in pre-clinical studies, which have clearly shown that the placement of an immediate implant does not prevent the bone resorptive changes (Araujo et al. 2005, 2006; Botticelli et al. 2006; Blanco et al. 2008; Vignoletti et al. 2009a, 2009b, 2009c; Vignoletti et al. 2012; Caneva et al. 2012). Similarly, in prospective clinical studies, a loss of volume in horizontal dimension, ranging from 35% to 55%, were shown associated with the immediate placement of a dental implant (Botticelli et al. 2004; Sanz et al. 2010). The clinical efficacy of this therapeutic protocol was recently evaluated by a systematic review (Lang et al. 2012) demonstrating a cumulative implant survival rate of 98.4% at 2 years, which is comparable with the conventional implant protocols at 5 years (Lang et al. 2004). Moreover, long-term prospective studies have shown good clinical outcomes, both in terms of maintenance of inter-dental crestal bone

**Date:**  
 Accepted 3 June 2014

**To cite this article:**  
 Discepoli N, Vignoletti F, Laino L, de Sanctis M, Muñoz F, Sanz M. Fresh extraction socket: spontaneous healing vs. immediate implant placement.  
*Clin. Oral Impl. Res.* 00, 2014, 1–6  
 doi: 10.1111/clr.12447

levels and aesthetic results (Sanz et al. 2010, Cooper et al. 2010).

Nevertheless, the question remains as to whether, in spite of these expected bone volumetric changes occurring after immediate implant placement, this therapeutic protocol represents an advantage in terms of ridge preservation, when compared with the spontaneous healing of the socket. When this question was addressed in an experimental study (Araujo et al. 2005), the reported results after 3 months of healing showed similar amounts of buccal bone resorption when compared with control sockets allowed to heal spontaneously. This study, however, did not evaluate early healing events, and the method to register the crestal bone changes was not very accurate. It is therefore the aim of this investigation to evaluate histologically the early healing events and precise dimensional alterations of sockets where an immediate implant has been placed and then compare these changes with those occurring at the adjacent sockets, which were allowed to heal spontaneously.

## Material and methods

This pre-clinical experimental investigation was designed following to the modified Arrive guidelines for pre-clinical research (Vignoletti & Abrahamsson 2012) as a prospective, randomized study evaluating five healing periods after tooth extraction (from 4 h to 8 weeks).

### Sample and facilities

The experimental phase of the study was carried out at the “Centro de Cirugía Experimental” of the Hospital “Gomez-Ulla” in Madrid, Spain, once the Regional Ethics Committee for Animal Research had approved the study protocol. The experimental model used has been previously reported (Vignoletti et al. 2009a, 2009b, 2009c). During the study, all necessary measures to minimize pain and discomfort for the experimental animals were taken in accordance with the European Communities Council Directive (86/609/EEC). The sample consisted on 16 female adult beagle dogs with a weight between 10 and 20 kg and a mean age of 1.5 years that were fed a soft pellet diet and maintained under a stringent mechanical plaque control programme three times per week.

### Surgical procedure

The surgical protocol was described in a previous publication (Vignoletti et al. 2009a,

2009b, 2009c). In brief, once the animals were sedated (with 80 µg/kg of Medetomidine plus 20 µg/kg of Butorfanol and 100 µg/kg of atropine Sulphate), they were placed under general anaesthesia and maintained under mechanical induced respiration throughout the surgery. After raising buccal and lingual mucoperosteal flaps in both sides of the mandible, teeth 3P3, and 4P4 were extracted atraumatically and immediate cylindrical implants (Osseotite-Certain®; Biomet 3i, Palm Beach Gardens, FL, USA) of 3.25 mm in diameter and 8.5, 10, and 11.5 mm in length were placed in the distal sockets (Immediate implant sites, IIS), whereas the mesial sockets were left to heal undisturbed (healed socket sites, HSS). Five healing periods were assessed: baseline (4 h after tooth extraction) and 1, 2, 4, and 8 weeks post-surgery, resulting in three animals per healing period providing four IIS and four HSS per dog. One extra animal was included in the last healing period (8 weeks) resulting in four dogs and 32 experimental sites.

### Histological processing

Animals were euthanatized according to their assigned healing period by perfusion through the carotid arteries with a fixative solution (Karnovsky 1965). The mandibles were then removed, and the tissue blocks were dissected and fixed. The specimens were dehydrated in graded series of ethanol and embedded in resin (LR White resin; London resin Company, Berkshire, UK and Technovit 7200 VLC; Heraeus Kulzer, Hanau, Germany). Blocks were cut in a bucco-lingual plane using a cutting grinding unit (Exact, Norderstedt, Germany). For proper alignment

of the cutting procedure, a radiograph was taken at each extraction site (control site), identifying the profile of the alveolar ridge and thus allowing the identification of the central bucco-lingual section, which was reduced to a final thickness of about 20 µm. For implant sites (IIS, Test), long axis of the implant was taken as a reference. The obtained sections were then stained using the Levai Lazcko (SHS, Control) and Toluidin Blue (IIS, Test) staining method.

### Histological examination and histometric analysis

The histological sections were examined with a 10X magnification ocular and 10–40× objectives on a Nikon Ti microscope (Nikon, Heidelberg, Germany) equipped with image analysis software (Q-500 MC; Nikon). Eight bucco-lingual sections (four IIS sites and four HSS sites) per animal were investigated, and all linear measurements in both the buccal and lingual walls were carried out by trained and calibrated examiners (DN; LL) following a method previously described (Araujo & Lindhe 2005). In detail, the landmarks used are described in Fig. 1:

- A vertical reference line (C-C') in the centre of the socket.
- Two horizontal lines (BB' and LL') perpendicular to C-C' from the most coronal portions of the buccal and lingual bone crests.

These landmarks allowed the measurement of the primary outcome of the study, the relative buccal bone resorption intended as the distance between BB' and LL' (B'L'), measured in mm.

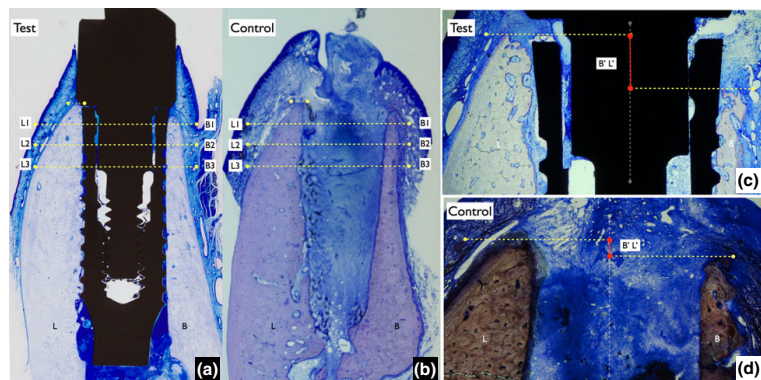


Fig. 1. (a,b) The width of buccal and lingual crest is measured at 1, 2, 3 mm from the most coronal point of the lingual crest. B1, B2, B3 from the buccal (B) side and L1, L2, L3 from the lingual side (L). (c,d) The figure shows graphically the linear distance B'L' (primary outcome variable) in Test (implant site) and Control sites (undisturbed socket).

Furthermore, the secondary outcome of the study was the width of the buccal and lingual bone walls. This was calculated at 1, 2, and 3 mm apical to the crest in both IIS and HSS sites (B1, B2, and B3 for the buccal crest and L1, L2, and L3 for the lingual crest)

**Data analysis**

The dog was considered the “statistical unit,” and data were reported as means, standard deviations, and median for each variable. Paired differences of the data (test and control) were calculated, and time effect was compared using Kruskal–Wallis test for the independent time groups. Dunn’s correction for multiple comparisons was applied. The experimental variability between subject was addressed with Friedman’s Test and Dunn’s correction for multiple comparison ( $P < 0.05$ ). The software Prism 5.0 (Graph Pad, San Diego, CA, USA) was used for the statistical analysis, and  $P < 0.05$  was considered as statistically significant.

**Results**

All IIS and HSS sites healed uneventfully and all experimental animals ( $n = 16$ ) completed all healing periods resulting in a total of 128 specimens available for histometric analysis.

The *histometric results* in terms of vertical buccal bone resorption (relative to the lingual bone crest) are shown in Table 1 and Fig. 2. At 4 h, the distance between B’L’ in the IIS and HSS sites were identical (0.42 [0.18] vs. 0.42 [0.10] mm, respectively). In the HSS sites, this dimension decreased between 4 h and 8 weeks very slightly (differences not statistically significant), being the distance between the buccal and lingual bone crests 0.18 (0.08) mm at 8 weeks. Conversely, in the IIS sites, this vertical dimension (B’L’) significantly increased from baseline to 8 weeks, being 0.94 (0.12) mm at 8 weeks of healing (Fig. 2). The differences between test and control sites in regards to vertical buccal bone resorption were statistically significant ( $P < 0.0389$ ; Fig. 2).

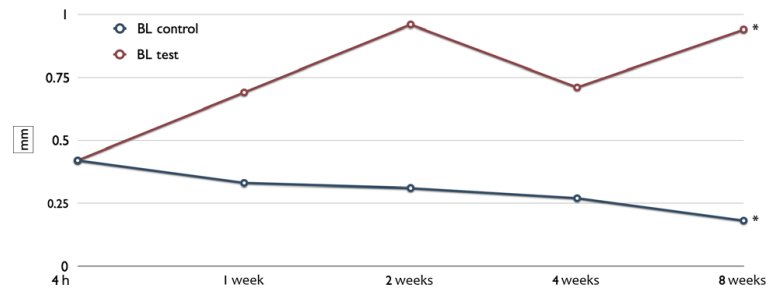


Fig. 2. The behaviour of the primary outcome variable B’L’ for test (IIS) and control (HSS) during the five healing periods (mean [SD; median]); values are expressed in mm. Inter-group statistically significant differences were detected. \*Inter-group difference: Friedman’s test  $P < 0.05$ .

The histometric results in terms horizontal bone resorption of the buccal and lingual crests in both groups are shown in Table 2 and graphically depicted in Fig. 3. In the IIS group, the most coronal portion of the buccal wall (B1) significantly decreased in thickness ( $P = 0.0482$ ) from 0.37 (0.04) to 0.13 (0.64) mm, resulting in a buccal bone resorption of 62% of its original width (Fig. 3). Conversely, at 2 and 3 mm, this thickness slightly increased (27% and 23%, respectively). The lingual wall experienced minor horizontal changes during the whole healing period with a slight increase of 14%, 21%, and 15% at L1, L2, and L3, respectively. In the HSS group, there were no significant changes in either the buccal or lingual bone walls at any of the measured levels. Differences between both groups were not statistically significant.

**Discussion**

This pre-clinical investigation aimed to compare the ridge dimensional changes occurring after tooth extraction in sockets with spontaneously healing (HSS or control sites) when compared with sockets where an immediate implant was placed (IIS or test sites). The primary outcome variable was the vertical bone resorption of the buccal bone plate, expressed as the distance between the most coronal lingual and buccal bone crests, B’L’, as described by Araujo et al. (2005). The vertical distance between the buccal and the lingual walls at

4 h after tooth extraction was established as the baseline distance, being 0.42 mm for both test and control sites, what demonstrates that this experimental model was appropriate for comparing both protocols. In the IIS, this distance increased gradually throughout the study, being approximately 1 mm after 8 weeks of healing. Conversely, in the HSS, control sites the distance B’L’ remained stable throughout the 8 weeks healing period. The comparison between experimental and control sites demonstrated that the differences in vertical bone resorption between test and control groups were statistically significant (Friedman’s test;  $P < 0.039$ ). Indeed, the position of the buccal bone crest in HSS was 0.31 (0.11) and 0.18 (0.08) mm at 2 and 8 weeks, whereas the corresponding values in the IIS were 0.96 (0.21) and 0.94 (0.12), respectively. If we consider that the B’L’ distance represents the vertical buccal bone resorption, it was approximately times times greater in the test group at the end of the study, when compared to the control group.

The results from the spontaneous healing of the extraction sockets are coincident with those reported on a similar study from our research group that reported a B’L’ distance of 1, 2 mm (SD 0.76) mm after 6 weeks of healing (Vignoletti et al. 2012), although different from other experimental studies reporting significantly higher resorption in the buccal bone crest as a result of the loss of bundle bone in the narrower buccal bone crest (Araujo et al. 2005; Fickl et al. 2008). These different outcomes may be explained by differences in the anatomy of the residual bone walls among the different animals used in the experimental studies, as well as the high regenerative potential of this experimental model.

In the experimental group where an implant was immediately placed in the fresh extraction socket, the vertical bone resorptive changes were more evident, and statistically

**Table 1. The results of the B’L’ variable for test and control sites during the experimental period (mean [SD; median])**

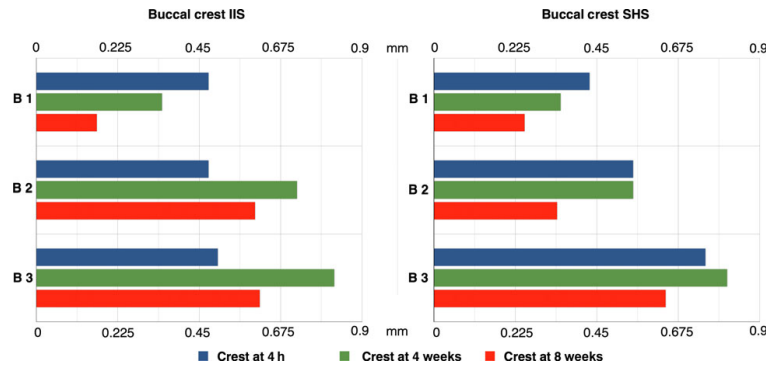
	4 hours	1 week	2 weeks	4 weeks	8 weeks
B’L’ CONTROL	0.42 (0.18; 0.36)	0.33 (0.06; 0.38)	0.31 (0.11; 0.33)	0.27 (0.11; 0.27)	0.18* (0.08; 0.19)
B’L’ TEST	0.42 (0.10; 0.43)	0.69 (0.52; 0.47)	0.96 (0.21; 1.05)	0.71 (0.16; 0.75)	0.94* (0.12; 0.93)

Inter-group statistically significant differences were detected.  
\*Inter-group difference: Friedman’s Test  $P < 0.05$ .

**Table 2. The results of the analysis of the width for test and control at three most coronal mm at the buccal (B1, B2, B3) and lingual (L1, L2, L3) side**

	4 hours		1 week		2 weeks		4 weeks		8 weeks	
	Control	Test	Control	Test	Control	Test	Control	Test	Control	Test
B 1	0.43 (0.14; 0.44)	0.37 (0.02; 0.43)	0.44 (0.04; 0.35)	0.33 (0.05; 0.32)	0.40 (0.19; 0.31)	0.23 (0.10; 0.17)	0.35 (0.11; 0.37)	0.27 (0.17; 0.30)	0.25 (0.19; 0.26)	0.13 (0.04; 0.15)
B 2	0.55 (0.32; 0.43)	0.37 (0.17; 0.32)	0.48 (0.19; 0.42)	0.3 (0.13; 0.35)	0.57 (0.25; 0.53)	0.39 (0.07; 0.42)	0.54 (0.19; 0.44)	0.56 (0.15; 0.48)	0.34 (0.15; 0.35)	0.47 (0.17; 0.48)
B 3	0.75 (0.57; 0.49)	0.39 (0.03; 0.26)	0.60 (0.21; 0.51)	0.23 (0.17; 0.26)	0.64 (0.26; 0.57)	0.55 (0.12; 0.48)	0.8 (0.18; 0.83)	0.64 (0.15; 0.58)	0.64 (0.19; 0.71)	0.48 (0.16; 0.45)
L 1	1.05 (0.33; 0.97)	0.96 (0.12; 0.98)	1.11 (0.14; 1.17)	1.11 (0.14; 1.17)	1.08 (0.25; 1.09)	0.95 (0.19; 0.95)	1.24 (0.20; 1.12)	1.26 (0.06; 1.18)	1.07 (0.30; 0.98)	1.10 (0.27; 1.00)
L 2	1.38 (0.29; 1.4)	1.36 (0.28; 1.45)	1.18 (0.26; 1.61)	1.60 (0.03; 1.49)	1.38 (0.20; 1.44)	1.36 (0.28; 1.33)	1.58 (0.25; 1.5)	1.61 (0.02; 1.61)	1.33 (0.21; 1.33)	1.65 (0.25; 1.61)
L 3	1.72 (0.34; 1.76)	1.62 (0.26; 1.76)	1.82 (0.17; 1.78)	1.81 (0.12; 1.79)	1.55 (0.13; 1.58)	1.52 (0.22; 1.45)	1.71 (0.29; 1.66)	1.77 (0.12; 1.73)	1.53 (0.24; 1.53)	1.87 (0.27; 1.81)

Measure is expressed in mm: mean (SD; median).



**Fig. 3.** Schematic drawing explaining the modifications of the width of buccal crest during the 8 weeks of healing between HSS (control) and IIS (test). Bars values represent the volume of the crest at three different intervals healing taking into account in this graphics (4 h; 4 weeks; 8 weeks). Control values are drawn in the right side and test's in the left side. The final value (8 weeks) of the crest is coloured with red; values are expressed in mm. The width of buccal and lingual crest is measured at 1, 2, 3 mm from the most coronal point of the lingual crest. B1, B2, B3 from the buccal [B] side.

significant differences were reported when compared with baseline measurements and when compared with the control sites at 2 and 8 weeks. These results are consistent with findings from another similar experiment (Blanco et al. 2013) investigating the influence of immediate loading on the early bone healing of implants placed at fresh extraction sockets. These authors compared immediately placed implants that were immediately loaded with those with delayed loading and reported that the B'L' distance increased progressively throughout the study in both groups, being at 8 weeks 0.80 (0.29) and 1.33 (0.81), respectively. These results are also congruent with those reported by Araujo and co-workers (Araujo et al. 2005) and Vignoletti and co-workers (Vignoletti et al. 2012), also evaluating the bone resorptive changes after immediate implant placement compared with spontaneous healing. The changes in the immediate implant group were similar to those reported in this investigation (2.4 mm), although different from this study, similar vertical bone resorptive changes were reported in the spontaneous healing or control group (2.2 mm). The lack of difference between test and control groups in the latter study may be due to the different evaluation times (3 months vs. 8 weeks of healing) and to the inherent heterogeneity of this animal model. One strong limitation of the method utilized in both studies is the lack of a fixed reference for histometric measurements, as the estimated buccal bone loss is always relative to the position of the lingual bone crest, which may also experience vertical resorption. In this study, we established a baseline reference at 4 h, being almost identical in

both groups, what allowed a more accurate comparison between the healing of both experimental and control sockets, if compared with the previously referred experimental studies (Araujo et al. 2005; Vignoletti et al. 2012).

The finding of a more pronounced buccal bone resorption in the IIS can be explained by the added surgical trauma during implant placement, which may promote an inflammatory reaction leading to further bone loss. Indeed, osteoclastic activity in the inner side of the buccal bone was detected as early as the first week.

One possible reason that may have influenced these results is that implants were placed in the centre of the socket, thus in close contact with the buccal bone wall. Both pre-clinical studies (Caneva et al., 2010) and human studies (Sanz et al. 2010) have shown that a more lingual position of the implant allowing the formation of gap between the implant surface and the inner buccal bone wall surface may limit the vertical remodelling of the buccal bone wall. In the latter study comparing cylindrical vs. conical implants, the mean value of the buccal gap (i.e. distance between the inner aspect of the bony walls and the implant surface) for the test group was more than double in comparison with the control group (1.3 [0.6] mm vs 0.5 [0.3] mm), demonstrating significantly less buccal vertical bone remodelling when a bigger gap was present. A multivariate analysis of the results from this clinical trial (Tomasi et al. 2010) confirmed these findings, underlying that the more palatal the implant was placed, the less vertical remodelling of the buccal bone crest occurred. This

more pronounced buccal bone resorption might also result in increased recession of the mucosal margin. Indeed, Evans & Chen (Evans & Chen 2008) observed that buccally placed implants resulted in three times more soft tissue recession than palatally placed immediate implants. Another point of consideration when comparing the results from this experimental study from those reported in clinical studies on single-tooth immediate implants is that the experimental sites in this experimental study were adjacent extraction sockets, what may accentuate the magnitude of vertical buccal bone resorption, as it has been reported in clinical (Johnson 1969) and radiographical studies (Al-Hezaimi et al. 2014; Al-Shabeeb et al. 2012).

The secondary outcome variables evaluated were the horizontal changes or the changes in the thickness of the buccal and lingual socket walls 1, 2, and 3 mm apical to the crest. The buccal crest at baseline was always thinner than the lingual crest in both groups. In the most coronal portion, the buccal bone wall, the IIS showed greater horizontal reduction as compared to HSS, although differences between groups were not statistically significant. Similar findings, although showing a greater buccal bone resorption, were

reported by Araujo and co-workers (Araujo et al. 2006). A possible explanation of the reported greater resorption may be the greater implant diameter used in that study (4.1 vs. 3.25) with a consequent closer proximity of the implant surface to socket's wall. Another reason to explain the differences may be the thicker buccal bone wall in the experimental animals from this investigation, although there is no report of baseline data in the Araujo et al. study (2006). Recent clinical (Tomasi et al. 2010; Barone et al. 2013) and experimental (Spinato et al. 2014) studies have reported that the thickness of the bone crest is a key factor influencing bone remodelling.

These results, however, must be interpreted with caution, in light of the limitations of this experimental study in regards to the sample size. We designed this pre-clinical study using a convenience sample, consisting of three dogs per each of the five healing periods. This number was based on the previous experience from our research group and on the ethical concern of not using an undue number of animals. As in other experimental pre-clinical studies, we aimed for obtaining histological outcomes, which may provide clear trends in the obtained differences

between test and control groups, rather than precise statistically significant differences.

In conclusion and within the limitations of this pre-clinical model, it was demonstrated that during early healing, immediate implant placement not only did not prevent the expected physiological bone remodelling after tooth extraction, but further seems to disturb the healing process leading to a more pronounced bone remodelling, mostly affecting the vertical dimensions of the buccal bone wall.

### Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

### Source of funding

The study has been partially supported by a research grant from Biomet 3i. The authors were fully independent in preparing the protocol, conducting the research, interpreting the results and preparing the final manuscript.

### References

- Al-Hezaimi, K., Al-Shabeeb, M.S., Al-Askar, M., Javed, F., Nooh, N., Al-Rasheed, A., Babay, N., Al-Hamdan, K.S. & Wang, H.L. (2014) Microcomputed tomographic analysis of the alveolar ridge alteration around extraction sites with and without immediate implants placement: in vivo study. *Clinical Implant Dentistry & Related Research* **16**: 223–229.
- Al-Shabeeb, M.S., Al-Askar, M., Al-Rasheed, A., Babay, N., Javed, F., Wang, H.L. & Al-Hezaimi, K. (2012) Alveolar bone remodeling around immediate implants placed in accordance with the extraction socket classification: a three-dimensional microcomputed tomography analysis. *Journal of Periodontology* **83**: 981–987.
- Amler, M.H. (1969) The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* **27**: 309–318.
- Araujo, M.G. & Lindhe, J. (2005) Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **32**: 212–218.
- Araujo, M.G., Sukekava, F., Wennstrom, J.L. & Lindhe, J. (2005) Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **32**: 645–652.
- Araujo, M.G., Wennstrom, J.L. & Lindhe, J. (2006) Modeling of the buccal and lingual bone walls of fresh extraction sites following implant installation. *Clinical Oral Implants Research* **17**: 606–614.
- Barone, A., Ricci, M., Tonelli, P., Santini, S. & Covani, U. (2013) Tissue changes of extraction sockets in humans: a comparison of spontaneous healing vs. Ridge preservation with secondary soft tissue healing. *Clinical Oral Implants Research* **24**: 1231–1237.
- Blanco, J., Mareque, S., Linares, A., Perez, J., Munoz, F. & Ramos, I. (2013) Impact of immediate loading on early bone healing at two-piece implants placed in fresh extraction sockets: an experimental study in the beagle dog. *Journal of Clinical Periodontology* **40**: 421–429.
- Blanco, J., Nunez, V., Aracil, L., Munoz, F. & Ramos, I. (2008) Ridge alterations following immediate implant placement in the dog: flap versus flapless surgery. *Journal of Clinical Periodontology* **35**: 640–648.
- Botticelli, D., Berglundh, T. & Lindhe, J. (2004) Hard-tissue alterations following immediate implant placement in extraction sites. *Journal of Clinical Periodontology* **31**: 820–828.
- Botticelli, D., Persson, L.G., Lindhe, J. & Berglundh, T. (2006) Bone tissue formation adjacent to implants placed in fresh extraction sockets: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **17**: 351–358.
- Caneva, M., Salata, L.A., de Souza, S.S., Baffone, G., Lang, N.P. & Botticelli, D. (2010) Influence of implant positioning in extraction sockets on osseointegration: histomorphometric analyses in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **21**: 43–49.
- Caneva, M., Botticelli, D., Morelli, F., Cesaretti, G., Beolchini, M. & Lang, N.P. (2012) Alveolar process preservation at implants installed immediately into extraction sockets using deproteinized bovine bone mineral – an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **23**: 789–796.
- Cardaropoli, G., Araujo, M. & Lindhe, J. (2003) Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology* **30**: 809–818.
- Cooper, L.F., Raes, F., Reside, G.J., Garriga, J.S., Tarrida, L.G., Wiltfang, J., Kern, M. & de Bruyn, H. (2010) Comparison of radiographic and clinical outcomes following immediate provisionalization of single-tooth dental implants placed in healed alveolar ridges and extraction sockets. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **25**: 1222–1232.
- Denissen, H.W., Kalk, W., Veldhuis, H.A. & van Waas, M.A. (1993) Anatomic consideration for preventive implantation. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **8**: 191–196.
- Discepoli, N., Vignoletti, F., Laino, L., de Sanctis, M., Munoz, F. & Sanz, M. (2013) Early healing of the alveolar process after tooth extraction: an experimental study in the beagle dog. *Journal of Clinical Periodontology* **40**: 638–644.

- Evans, C.D. & Chen, S.T. (2008) Esthetic outcomes of immediate implant placements. *Clinical Oral Implants Research* **19**: 73–80.
- Fickl, S., Zuhr, O., Wachtel, H., Bolz, W. & Huerzeler, M. (2008) *Journal of Clinical Periodontology* **35**: 356–363.
- Hammerle, C.H., Chen, S.T. & Wilson, T.G., Jr. (2004) Consensus statements and recommended clinical procedures regarding the placement of implants in extraction sockets. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **19**(Suppl): 26–28.
- Johnson, K. (1969) A study of the dimensional changes occurring in the maxilla following tooth extraction. *Australian Dental Journal* **14**: 241–244.
- Karnovsky, M.J. (1965) A formaldehyde–glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *Journal of Cell Biology* **27**: 137A–138A.
- Lang, N.P., Berglundh, T., Heitz-Mayfield, L.J., Pjetursson, B.E., Salvi, G.E. & Sanz, M. (2004) Consensus statements and recommended clinical procedures regarding implant survival and complications. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **19**(Suppl): 150–154.
- Lang, N.P., Pun, L., Lau, K.Y., Li, K.Y. & Wong, M.C. (2012) A systematic review on survival and success rates of implants placed immediately into fresh extraction sockets after at least 1 year. *Clinical Oral Implants Research* **23**(Suppl 5): 39–66.
- Petrokovski, J. & Massler, M. (1967) Alveolar ridge resorption following tooth extraction. *Journal of Prosthetic Dentistry* **17**: 21–27.
- Sanz, M., Cecchinato, D., Ferrus, J., Pjetursson, E.B., Lang, N.P. & Lindhe, J. (2010) A prospective, randomized-controlled clinical trial to evaluate bone preservation using implants with different geometry placed into extraction sockets in the maxilla. *Clinical Oral Implants Research* **21**: 13–21.
- Spinato, S., Galindo-Moreno, P., Zaffe, D., Bernardello, F. & Soardi, C.M. (2014) Is socket healing conditioned by buccal plate thickness? A clinical and histologic study 4 months after mineralized human bone allografting. *Clinical Oral Implants Research* **25**: e120–e126.
- Tomasi, C., Sanz, M., Cecchinato, D., Pjetursson, B., Ferrus, J., Lang, N.P. & Lindhe, J. (2010) Bone dimensional variations at implants placed in fresh extraction sockets: a multilevel multivariate analysis. *Clinical Oral Implants Research* **21**: 30–36.
- Trombelli, L., Farina, R., Marzola, A., Bozzi, L., Liljenberg, B. & Lindhe, J. (2008) Modeling and remodeling of human extraction sockets. *Journal of Clinical Periodontology* **35**: 630–639.
- Vignoletti, F. & Abrahamsson, I. (2012) Quality of reporting of experimental research in implant dentistry. Critical aspects in design, outcome assessment and model validation. *Journal of Clinical Periodontology* **39**(Suppl 12): 6–27.
- Vignoletti, F., de Sanctis, M., Berglundh, T., Abrahamsson, I. & Sanz, M. (2009a) Early healing of implants placed into fresh extraction sockets: an experimental study in the beagle dog. II: Ridge alterations. *Journal of Clinical Periodontology* **36**: 688–697.
- Vignoletti, F., de Sanctis, M., Berglundh, T., Abrahamsson, I. & Sanz, M. (2009b) Early healing of implants placed into fresh extraction sockets: an experimental study in the beagle dog. III: Soft tissue findings. *Journal of Clinical Periodontology* **36**: 1059–1066.
- Vignoletti, F., Discepoli, N., Muller, A., de Sanctis, M., Munoz, F. & Sanz, M. (2012) Bone modelling at fresh extraction sockets: Immediate implant placement versus spontaneous healing: an experimental study in the beagle dog. *Journal of Clinical Periodontology* **39**: 91–97.
- Vignoletti, F., Johansson, C., Albrektsson, T., De Sanctis, M., San Roman, F. & Sanz, M. (2009c) Early healing of implants placed into fresh extraction sockets: an experimental study in the beagle dog. De novo bone formation. *Journal of Clinical Periodontology* **36**: 265–277.

## VIII DISCUSIÓN

El objetivo específico de la primera investigación fue comparar por medio de variables histológicas el proceso de cicatrización de alveolos adyacentes en el caso de implante inmediato o de cicatrización espontánea. Con el fin de evaluar el remodelado vertical de la cresta vestibular en relación a la correspondiente cresta lingual, se utilizó el método de medición lineal previamente descrito por Araujo y colaboradores (Araújo et al. 2005) capaz de cuantificar los cambios verticales vestibular es en relación a la posición de la correspondiente cresta lingual. Esta metodología se introdujo para evaluar la cicatrización espontánea de los alveolos en comparación con la colocación inmediata de los implantes (Araújo et al. 2005) o bien para evaluar diferentes técnicas de preservación de alveolo (Araújo et al. 2008, Fickl et al. 2008). Una importante limitación de este método es que la medida del remodelado vertical de la cresta no es absoluta, sino relativa a la posición inicial de la cresta lingual, la cual puede también estar sujeta a cambios dimensionales a lo largo de las fases de cicatrización. Si asumimos que el cambio dimensional en sentido vertical de la cresta lingual no cambia a lo largo del proceso de cicatrización (Araújo et al. 2005), entonces las medidas de los cambios verticales absolutos y relativos de la cresta podrían coincidir. Sin embargo varios estudios han evidenciado como también la cortical lingual podría sufrir cambios dimensionales durante el proceso de cicatrización. Aimetti y colaboradores (Aimetti et al. 2009), con el ayuda de una férula de acrílico como referencia, midieron los cambios dimensionales verticales tras la extracción de un diente con y sin preservación de alveolo y reportaron una reducción de  $0,9\text{mm} \pm 1,1$  en el grupo de alveolos dejado cicatrizar espontáneamente. De forma similar Sanz y colaboradores (Sanz et al. 2010) en un estudio clínico aleatorizado y controlado reportaron una reabsorción vertical de la cortical palatina de  $0,5 \text{ mm} \pm 1,5\text{mm}$  tras la colocación de implantes inmediatos.

En estudios preclínicos donde se han comparado los cambios de la cortical palatina en relación al hombro del implante con medidas histométricas. Araujo y colaboradores (Araújo et al. 2006b) observaron que en basal la cresta lingual estaba posicionada  $1,1 \text{ mm} (\pm 0,5)$  coronal al hombro del implante mientras que al final del estudio la cresta palatina se encontraba a  $0,4\text{mm} (\pm 0,4\text{mm})$  de la misma referencia. La cortical palatal había sufrido una reabsorción vertical cuantificable en  $0,7\text{mm}$ . Contrariamente, Vignoletti y colaboradores

(Vignoletti et al. 2009) han evidenciado como a lo largo de un periodo de 8 semanas de cicatrización, tras la colocación de implantes inmediatos, la cortical lingual no sufría cambios dimensionales apreciables.

En dichos estudios pre-clínicos (Araújo & Lindhe 2005, Vignoletti et al. 2009) la distancia entre la porción mas coronal de la cortical lingual y el hombro del implante medida en basal era de 0,7mm, mientras que en el lado vestibular era de 0,4mm. Estos datos son conformes a los que se pueden encontrar en otro estudio del mismo grupo (Araújo et al. 2008) en el que la distancia vertical entre la cortical lingual y la cortical vestibular fue de 0,6mm ( $\pm$  0,1mm). Estos estudios por lo tanto, describen una distancia de aproximadamente 0,5mm entre ambas corticales, con la cortical lingual siempre en una posición mas coronal.

A la luz de la limitación metodológica evidenciada en el modelo experimental propuesto en esta y otras investigaciones recientes, los resultados obtenidos en el presente estudio deben interpretarse con cautela. La distancia entre la cresta marginal vestibular y lingual (BL) fue menor en los alveolos del grupo test (implante inmediato: 0,92mm) en comparación con los del grupo control (1,20mm), aunque esta diferencia no resulto estadísticamente significativa. Sin embargo en los alveolos en los que se colocaron implantes de forma inmediata, la reabsorción vertical absoluta (distancia entre el hombro del implante y el margen coronal de la cresta vestibular) fue definitivamente mayor ( $2,32\text{mm} \pm 0,36$ ) que la correspondiente medida relativa de los alveolos controles ( $1,20\text{mm} \pm 0,76$ ). Esta comparación evidencia una reabsorción mas marcada en el aspecto vestibular en caso de implantes inmediatos. Debido al hecho que para el grupo de los alveolos dejado cicatrizar espontáneamente no es disponible una referencia fija, la comparación de estos resultados resulta limitada. Tenemos que asumir, como se ha descrito previamente que la cortical lingual sufre cambios verticales mínimos tras la extracción de un diente (aproximadamente 0,5mm), por lo tanto la diferencia entre la cortical vestibular y la lingual debería ser aproximadamente 0,5mm.

Para extrapolar la perdida vertical absoluta de la cortical vestibular en correspondencia de los alveolos controles, tenemos que considerar que exista un reabsorción de la cortical lingual (-0,5mm) y una diferencia entre la cresta lingual y la cresta vestibular de 0,5mm, por lo que aproximadamente existirá 1mm de reabsorción de la tabla vestibular, así evidenciada

en la presente investigación. Aunque esta extrapolación deba interpretarse con cautela, es evidente que reabsorción de la tabla vestibular y lingual fue de mayor magnitud en los alveolos donde se colocaron implantes inmediatos.

Otro factor a considerar en la interpretación de los datos de esta investigación es el hecho que según el protocolo adoptado, fueron realizadas múltiples extracciones. Existe evidencia que demuestra un mayor remodelado vertical cuando se realizan extracciones múltiples en comparación con extracciones unitarias (Johnson 1969) y este mayor remodelado vertical se observa también en el caso de colocar implantes múltiples inmediatos (Botticelli et al. 2006).

A la hora de agrupar los resultados de acuerdo a la geometría de los implantes (implantes de una pieza versus dos piezas) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ni en la comparación intra-grupo ni en la comparación inter-grupo. Una tendencia hacia un mayor remodelado vertical de la tabla vestibular se encontró en el grupo de implantes de una pieza (Straumann® y Thommen®) en comparación a la pérdida vertical relativa del alveolo adyacente. Los implantes Straumann® son implantes de una pieza con un cuello pulido de 1,8mm, con forma de tulipán, mientras que los implantes Thommen® son implantes de una pieza con un cuello pulido cilíndrico de tan solo 1mm. Al comparar las diferencias entre grupo test y grupo control por cada sistema de implante, no se hallaron diferencias estadísticamente significativa en términos de pérdida ósea relativa. El sistema de implante Straumann® demostró una mayor reabsorción vertical absoluta en comparación con el alveolo adyacente. Estos resultados sugieren que aunque la geometría/superficie del implante no parece influir en la magnitud de la reabsorción a cargo de la tabla vestibular tras su colocación inmediata (De Sanctis et al. 2009), puede influenciar el proceso de cicatrización de los alveolos controles adyacentes. La reabsorción observada en la tabla vestibular de alveolos donde se colocaron implantes Straumann® fue de  $2,95\text{mm} \pm 1,79$ , mientras que el valor de los alveolos controles adyacentes resulto ser de  $0,94\text{mm} \pm 0,58$ . Todavía no se comprenden completamente las razones biológicas que puedan ayudar a interpretar estas diferencias, aunque una posible explicación podría deberse a la forma de tulipán que tiene la porción transmucosa del implante Straumann®.

Desde un punto de vista histomorfométrico, la cicatrización espontánea de los alveolos, tras 6 semanas de cicatrización, se caracterizó por una porción de nuevo tejido mineralizado ( $45\% \pm 14\%$ ) que se encontró en la porción central del alveolo y por una puente óseo cortical en la porción más coronal del alveolo. Estos resultados son en línea con los resultados descritos por Cardaropoli y colaboradores (Cardaropoli et al. 2003), que estudiaron la dinámica de cicatrización de los alveolos en el perro Beagle. En este estudio el porcentaje de tejido mineralizado presente en los alveolos a 2, 4, 8 semanas tras las extracciones fue de  $48\% (\pm 29,4)$ ,  $88\% (\pm 8,7)$  y  $23\% (\pm 15,2)$  respectivamente.

En la presente investigación la reabsorción relativa de la tabla vestibular observada en los alveolos controles (cicatrización espontánea) fue menor de la que fue reportada en un estudio conducido en un modelo experimental parecido (Araújo et al. 2005). En el estudio de Araújo y coll. se quiso comparar la cicatrización de los alveolos tras la extracción de los premolares mandibulares y los implantes inmediatos, colocados en la hemi-mandíbula contralateral. El tiempo de cicatrización fue de 3 meses. La reabsorción vertical de la cresta en los dos grupos (implante inmediato vs alveolo) resultó parecida.

Otro estudio del mismo grupo de investigación analizó la dinámica de cicatrización en alveolos tras las extracciones de los premolares mandibulares, a 1, 2, 4 y 8 semanas (Araújo & Lindhe 2005). La cantidad de remodelado vertical de la tabla vestibular fue de  $1,9\text{mm} \pm 0,2$ ; aunque también en este caso, la cantidad de reabsorción vertical fue mayor que la encontrada en la presente investigación. Esta menor cantidad de remodelado puede atribuirse a varios factores, entre los cuales podemos mencionar la edad de los perros utilizados, los diferentes periodos de observación y el posible distinto trauma quirúrgico. Probablemente el menor periodo de cicatrización observado en el presente estudio puede representar el principal factor capaz de influenciar la diferente magnitud de los resultados.

La cantidad media de reabsorción vertical en la tabla ósea vestibular de las localizaciones test (implante inmediato) es comparable con los resultados presentes en estudios experimentales similares (Araújo et al. 2005, Caneva et al. 2010c). Los resultados disponibles en literatura son heterogéneos, debido al hecho que en estos modelos experimentales no existe una correcta estandarización de algunos parámetros que resultan críticos para el proceso de remodelado de las crestas alveolares como la presencia de un gap entre la pared interna del alveolo y la superficie del implante o el anchura de la cresta

ósea. De hecho, otros estudios experimentales han demostrado como a mayor anchura del alveolo correspondiese, existe una menor cantidad de remodelado vertical de la cresta (Araújo et al. 2006a, Vignoletti et al. 2009). Otros factores como la posición del implante en el alveolo (Caneva et al. 2010c) o bien la influencia de la forma/geometría del implante, también han sido analizados. Implantes de 3,3mm de diámetro han sido comparados con implantes cónicos de 5mm de diámetro. Los resultados demostraron que los implantes cónicos promovían mayor reabsorción vertical de la tabla vestibular (Caneva et al. 2010d). Recientemente estudios clínicos han confirmados estos resultados, demostrando que el anchura de la cortical vestibular y el tamaño del gap entre alveolo e implante son factores claves que influyen significativamente el remodelado del alveolo tras la colocación de un implante inmediato (Ferrus et al. 2010, Sanz et al. 2010). Estas variables, junto a la colocación del implante en el alveolo en una posición mas lingual y la consecuente presencia de un mayor gap, pueden ser responsables de la menor remodelación ósea vertical descrita en la presente investigación.

En resumen, los resultados histométricos de este estudio experimental a 6 semanas de cicatrización, han demostrado que la cortical vestibular sufre una reabsorción vertical en ambos alveolos, tanto en los que se colocaron implantes inmediatos como los que se dejaron cicatrizar espontáneamente. Las limitaciones metodológicas intrínsecas al modelo experimental usado, no permiten sacar conclusiones definitivas, pero combinando los datos presente en literatura con los datos obtenidos en la presente investigación, se puede concluir que la colocación de un implante colocado inmediatamente tras la extracción de un diente, no solo no impide el remodelado óseo, sino que mas bien puede, en circunstancias específicas, aumentar la cantidad de reabsorción vertical. Futuras investigaciones sobre la cicatrización de los alveolos, deberían utilizar referencias fijas en basal para la medición de los cambios dimensionales.

El principal objetivo del segundo estudio fue describir los acontecimientos biológicos que acontecen en las fases precoces del proceso de cicatrización de los alveolos inmediatamente después la extracción de los dientes. Este estudio ha demostrado que ambas crestas, vestibular y lingual, de forma similar, reducen sus dimensiones verticales de forma progresiva a lo largo de todo el periodo experimental (8 semanas). Cuatro horas tras

la extracción de los dientes la cresta vestibular se encontraba 0,4mm mas apical de la cresta lingual; tras 8 semanas de cicatrización esta distancia linear era solamente de  $0,18\text{m} \pm 0,08$ . Estos hallazgos resultan discrepantes con los resultados publicados previamente por otros grupos de investigación. Araujo y colaboradores (Araújo & Lindhe 2005) describieron una distancia de  $1,9\text{mm} \pm 0,2$  entre la cortical lingual y la cortical vestibular tras 2 meses de cicatrización. Los autores comentaron que la mayor parte de esta distancia debería adscribirse al remodelado de la cresta vestibular, dado que la cortical lingual sufría menores cambios dimensionales. Los cambios marcados de la tabla vestibular, siempre según estos autores, se relacionan a la reabsorción del hueso fasciculado, que compone gran parte de la porción mas coronal de las crestas vestibulares mas estrechas. Fickl y colaboradores (Fickl et al. 2008) evaluaron la reabsorción de alveolos tras extracción, en un modelo pre-clínico utilizando perros Beagle. Tras 4 meses de cicatrización la diferencia media entre la cortical lingual y la cortical vestibular resulto ser de  $3,2\text{mm} \pm 0,2$ . La heterogeneidad de los resultados presentes en la literatura probablemente refleja las diferencias en las diferentes camadas de perros usados en estos estudios con diferencias marcadas en la anatomía de sus crestas residuales tras la extracción dentaria. Esta diferencia anatómica puede influenciar la magnitud del proceso de modelado y remodelado de los alveolos. De hecho en las unidades experimentales de la presente investigación, se ha notado una composición muy variable de hueso fasciculado y hueso lamelar de las crestas alveolares. Además en varias muestras se ha notado un “rebote” de hueso inmaduro, formado tras la extracción, capaz de reponer casi por completo el altura original de la cresta ósea. Este fenómeno ha sido descrito previamente en la literatura (De Sanctis et al. 1988, Qahash et al. 2008) y puede relacionarse con el elevado potencial de regeneración intrínseco al modelo experimental en perros. Quahash y colaboradores estudiaron la dinámica del remodelado de la cresta vestibular tras la colocación de un implante inmediato y describieron un “rebote” coronal medio de  $0,69\text{mm} \pm 0,15$  en el hueso inmaduro recién formado, con el 30% de las sitios que habían experimentado un completo reemplazamiento del altura coronal originaria de la tabla vestibular (Qahash et al. 2008).

Aunque la mayoría de las investigaciones que han evaluado la cicatrización de los alveolos inmediatamente tras la extracción han encontrado una significativa reducción vertical de la tabla vestibular, la evaluación de estos cambios ha sido dificultada por el ausencia de una

referencia fija. De hecho la mayoría de los autores han utilizados la cortical lingual como punto de referencia, asumiendo que fuera dimensionalmente estable a lo largo del proceso de cicatrización. Sin embargo, en la presente investigación se ha demostrado que la tabla ósea cortical lingual también puede sufrir cambios dimensionales. En el presente protocolo de investigación, se ha utilizado el tiempo de cicatrización a 4 horas como referencia con el fin de medir la distancia original entre el punto más coronal de las corticales linguales y vestibulares. A la semana de cicatrización hemos encontrado una reducción del 27% de la distancia B'L' de su valor inicial (4 horas). Este proceso de reabsorción perdura a lo largo de todo el periodo de cicatrización (8 semanas), con una magnitud menor, sin demostrar una diferencia significativa entre las paredes vestibulares y linguales del alveolo.

Resultados similares han sido publicados en una revisión sistemática de estudios clínicos de reciente publicación (Van der Weijden et al. 2009). La diferencia vertical media entre la cortical lingual y la cortical vestibular de los alveolos, tras extracción dentaria, fue de 0,36mm.

En la presente investigación, aunque se tomaron radiografías para individuar correctamente el centro de los alveolos, en la fase tardía de cicatrización (octava semana), resultó más difícil identificar sus perfiles originales, pudiendo representar esta, una limitación a la hora de medir según el protocolo de investigación la medida B'L'.

Uno de los objetivos de esta investigación ha sido medir los cambios debidos al proceso de reabsorción horizontal de las corticales linguales y vestibulares del alveolo. La cortical lingual mantuvo casi inalterada su anchura a lo largo de todo el periodo de 8 semanas. Contrariamente la cortical vestibular sufrió una importante reducción de su anchura original. Entre la semana 4 y la semana 8 se observó una reducción del 40% de su dimensión original, principalmente a cargo del tercio coronal. Estos resultados resultan parcialmente discrepantes con los publicados por Araujo & Lindhe (2005), en un modelo experimental parecido. Estos autores describieron una reducción relativa de la tabla vestibular del 16%, con una reducción lineal de 0,1 e 0,2 mm respectivamente a 1 y 3 mm del margen coronal. Las diferencias en estos resultados puede deberse a las distintas referencias usadas par la medición en el análisis histométrico. En el artículo de Araujo & Lindhe (2005), la referencia que se tomó en cuenta a la hora de medir el anchura de la cresta fueron los puntos más

coronales de las crestas vestibulares y linguales, mientras que en el presente estudio usamos el punto mas coronal de la cresta lingual para establecer los cortes de medición. (1, 2, 3 mm). Cabe la pena mencionar como el remodelado vertical de la cresta vestibular, descrito en el articulo de Araujo & Lindhe (2005) pueda haber influenciado la medición del anchura buco lingual de las crestas. Otro posible factor capaz de explicar las diferencias en los resultados obtenidos, podría ser el anchura inicial de la cresta vestibular. En el presente estudio, el anchura de la cresta vestibular, 1 mm mas apical del margen coronal de la cresta lingual, fue  $0,43\text{mm} \pm 0,02$ , que corresponde a un 33% menos del ancho de la tabla vestibular reportado en el estudio de Araujo & Lindhe (2005) (0,6mm a una semana). Una tabla vestibular mas estrecha puede promover una mayor reabsorción horizontal, como ha sido descrito por Tomasi y colaboradores (Tomasi et al. 2010) en un ensayo clínico aleatorizado. Tras la colocación de implantes inmediatos, la presencia de una cortical vestibular  $< 1\text{mm}$ , se relacionaba a una reducción de la creta alveolar del 50%, mientras que en el caso de crestas con un anchura mayor ( $\geq 1\text{mm}$ ), la contracción dimensional de la creta era del 20%. Cabe la pena mencionar que el análisis de la dinámica del anchura de la creta esta basada sobre medidas relativas.

El valor linear que define el anchura de la creta en cada intervalo de cicatrización, depende también, en el caso de la presente investigación, con el remodelado vertical de la creta lingual, tomada como referencia. En esta perspectiva, el punto de referencia se mueve apicalmente, y debido a la anatomía de la creta (mayor anchura en posición mas apical) puede compensar al cantidad de reabsorción ocurrida.

La secuencia histológica descrita en la presente investigación, sin embargo, coincide con las descripciones de investigaciones previas en modelos experimentales parecidos (Cardaropoli et al. 2003, Araújo & Lindhe 2005). A las 4 semanas, en el tercio apical de los alveolos, la cantidad de tejido mineralizado se redujo, con la concomitante formación de medula ósea inmadura caracterizada por amplios espacios medulares, con presencia de vasos, adipocitos y células mesenquimales. A las 8 semanas, el porcentaje medio de tejido mineralizado en el alveolo fue del 39%, que coincide con el valor descrito en el estudio de Araujo y colaboradores (Araújo et al. 2008), en el que tras 3 meses de cicatrización el porcentaje de tejido mineralizado en el alveolo fue del 50%.

Entre las limitaciones del presente estudio, cabe la pena mencionar el corto tiempo de evaluación total utilizado. Otros autores han demostrado que a los 2 meses de cicatrización el proceso de remodelado óseo todavía sigue activo (Araújo & Lindhe 2005, Trombelli et al. 2008). Este hecho se puede confirmar en los especímenes observados a las octava semanas de cicatrización, en los que podemos todavía identificar osteonas secundarias que evidencian como el proceso de remodelado ósea sigue todavía activo.

El objetivo de la tercera investigación preclínica fue de comparar los cambios dimensionales de la cresta alveolar, tras la extracción de dientes, en alveolos dejados cicatrizar espontáneamente (HSS-control) frente a los alveolos adyacentes donde se colocaron implantes inmediatos (IIS-test). Se consideró como principal variable respuesta la reabsorción vertical de la cresta vestibular, definida como la distancia linear entre el punto mas coronal de la cresta lingual y el punto mas coronal de la cortical vestibular (B'L'), como ha sido previamente descrito por Araujo y colaboradores (2005).

El valor de B'L' a 4 horas de cicatrización fue 0,42mm en ambos grupos experimentales. Esta homogeneidad entre test y control atestigua la idoneidad del modelo experimental elegido. En el grupo IIS, el valor de la distancia B'L', aumentó gradualmente durante todo el periodo de cicatrización, alcanzando el valor de 1mm al final del estudio. Contrariamente en el grupo HSS, la distancia B'L' permaneció estable durante todo el periodo de cicatrización. La comparación de esta medida entre el grupo test y el grupo control demostró diferencias estadísticamente significativas (test de Friedman;  $P < 0,039$ ): B'L' fue para el grupo control 0,31mm y 0,18mm a las segunda y octava semanas respectivamente, mientras que el valor correspondiente para el grupo test fue 0,96mm y 0,94mm. El grupo test (IIS) demuestra una perdida vertical de cresta alveolar 4 veces mayor que el grupo de alveolos dejados cicatrizar espontáneamente.

Los resultados del grupo control (HSS, cicatrización espontanea) coinciden con los resultados descritos en una investigación similar, publicada por el nuestro grupo de investigación, que publicó un valor de B'L' de  $1,2 \text{ mm} \pm 0,76$  tras seis semanas de cicatrización (Vignoletti et al. 2012). Sin embargo hay otras publicaciones donde la cantidad de remodelado vertical fue significativamente mayor, probablemente debido a una mayor

reabsorción del hueso fasciculado en la parte mas coronal de las crestas vestibulares (Araújo & Lindhe 2005, Fickl et al. 2008). Estas diferencias en los resultados publicados en la literatura pueden explicarse por las diferencias anatómicas de las crestas alveolares residuales entre los diferentes animales experimentales usados y también por el alto potencial regenerativo intrínseco a este modelo experimental.

En el grupo experimental (IIS), donde se colocaron implantes inmediatamente tras la extracción de los dientes, las reabsorciones verticales fueron mas evidentes, con diferencias estadísticamente significativa en comparación con el valor basal y a la segunda y octava semana en comparación con el grupo control (HSS).

Estos resultados son comparables con los que se han publicados en investigaciones que han utilizado un protocolo experimental parecido (Blanco et al. 2013). Blanco y colaboradores han investigado la influencia de la carga inmediata en la cicatrización temprana de los alveolos tras la colocación inmediata de implantes. Tanto en el grupo experimental (colocación inmediata y carga inmediata) cuanto en el grupo control (colocación inmediata del implante) la distancia B'L' aumentó progresivamente a lo largo de todo el periodo experimental, siendo a las 8 semanas  $0,80\text{mm} \pm 0,29$  y  $1,33\text{mm} \pm 0,81$  para el grupo test y control respectivamente. Estos resultados son congruentes con los que se han publicado en otras investigaciones (Araújo et al. 2005, Vignoletti et al. 2012). En el grupo test (implante inmediato) la cantidad de reabsorción vertical fue similar a la que se ha encontrado en la presente investigación; contrariamente en el grupo control (cicatrización espontanea) la cantidad de remodelado vertical de la cresta fue mayor (2,2mm) y comparable al grupo test. La falta de diferencia entre test y control en estos estudios, diferente a los resultados obtenidos en la presente investigación, puede deberse al diferente tiempo de cicatrización analizado (8 semanas vs 3 meses) y a la intrínseca heterogeneidad del modelo experimental.

Una importante limitación en los estudios de Araujo y colaboradores (2005) y de Vignoletti y colaboradores (2012) es la ausencia de una referencia fija para las mediciones histométricas de los procesos de remodelado, tal como se ha descrito previamente. En nuestro estudio hemos utilizados como referencia los valores hallados a las 4 horas de cicatrización ya que en ambos grupos experimentales la distancia B'L' resulto idéntica, lo que ha permitido una comparación mas exacta de la cantidad de remodelado vertical al tener en el hombro del

implante un punto de referencia fijo (Araújo et al. 2005, Vignoletti et al. 2012). La mayor reabsorción vertical observada en el grupo IIS, puede explicarse también con un mayor trauma quirúrgico producido durante la colocación de los implantes, que puede haber producido una reacción inflamatoria potencialmente capaz de aumentar el remodelado óseo vertical de la cresta. En este sentido debe recalcarse que la actividad osteoclastica en la cortical vestibular del alveolo fue apreciable ya a partir de la primera semana de cicatrización.

Otra aspecto que puede haber influenciado los presentes resultados, es que los implantes en el grupo test se colocaron en el centro del alveolo, en íntimo contacto con la cortical vestibular. Estudios preclínicos (Caneva et al. 2010c) y estudios clínicos (Sanz et al. 2010) han demostrado que colocar el implante en una posición más palatina/lingual, permite la presencia de un gap entre la pared interna de la cortical vestibular y la superficie del mismo implante, lo que podría reducir la cantidad de remodelado vertical. Sanz y colaboradores (Sanz et al. 2010) diseñaron un estudio clínico comparando implantes cilíndrico y cónicos colocados inmediatamente tras la extracción dentaria. El valor del gap en el grupo test (implantes cilíndricos) fue más del doble en comparación con los implantes control (1,3mm vs 0,5mm). Los resultados evidenciaron que en presencia de un mayor gap la cantidad de remodelado vertical resultó estadísticamente menor. Un análisis multivariante efectuado con los resultados del ensayo clínico de Sanz y colaboradores (2010) confirmó que con una posición más palatal/lingual del implante en el alveolo la cantidad de reabsorción vertical de la cresta fue menor (Tomasi et al. 2010). A nivel clínico una mayor reabsorción vertical de la tabla vestibular puede coincidir con un aumento de la recesión del margen de la mucosa vestibular. Evans & Chen (Evans & Chen 2007) observaron que los implantes colocados en una posición vestibular del alveolo sufrían una recesión tres veces mayor que los implantes colocados en dirección palatina.

El protocolo experimental utilizado en la presente investigación preveía que los alveolos experimentales (test y control) fuesen adyacentes. Este hecho puede haber aumentado la magnitud del remodelado vertical, como previamente se ha demostrado en estudios clínicos (Johnson 1969) y en análisis radiográficos (Al-Shabeeb et al. 2012, Al-Hezaimi et al. 2013).

La variable respuesta secundaria fue el cambio horizontal (anchura de la cresta) de las crestas vestibulares y linguales de los alveolos, medido a 1, 2, 3 mm apicalmente desde el punto más coronal. El ancho de la cresta vestibular en basal resultó siempre menor que la lingual en ambos grupos experimentales. En su porción más coronal la cresta vestibular del grupo control (HSS) experimentó una reducción horizontal mayor de la correspondiente porción coronal del grupo test (IIS), aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Resultados similares fueron encontrados en el estudio de Araujo y colaboradores (Araújo et al. 2006b), aunque la magnitud de reabsorción observada fue mayor. Una posible interpretación de esta mayor cantidad de remodelado podría ser el mayor diámetro de implantes usado en el estudio de Araujo (2006) en comparación con el utilizado en nuestra investigación (4,1mm vs 3,25mm). Esta diferencia de diámetro pueden implicar una mayor proximidad del implante a la cresta vestibular (menor gap). Otro aspecto a considerar es el ancho de la cresta en basal de los varios modelos experimentales utilizados. Estudios recientes, tanto clínicos (Tomasi et al. 2010, Barone et al. 2013), como preclínicos (Spinato et al. 2014) han demostrado como el ancho de la cresta vestibular es un factor capaz de influenciar el remodelado del alveolo: pues las crestas vestibulares de mayor ancho resultan más estables a lo largo del proceso de remodelado evidenciando una menor reabsorción vertical.

Los resultados descritos en esta investigación tienen que ser interpretados con cautela por las limitaciones intrínsecas del presente modelo experimental y por el reducido tamaño muestral. Este estudio preclínico fue diseñado utilizando un tamaño muestral de conveniencia, que consistía en tres animales experimentales por cada periodo de cicatrización. Este número fue utilizado en base a las experiencias previas de nuestro grupo de investigación en este tipo de protocolo y también por razones éticas, para no utilizar un número innecesario de unidades experimentales (perros).

## IX CONCLUSIONES

1. La secuencia de acontecimientos biológicos que ocurren en el alveolo tras la extracción de un diente consiste en la formación de un coágulo desde las primeras horas del proceso de cicatrización, al que sigue la formación de un tejido más organizado (tejido de granulación y matriz provisional). Al mes de cicatrización la cantidad de hueso mineralizado se concentra en la parte más coronal del alveolo y junto a este nuevo tejido óseo lamelar se puede observar un proceso de remodelado en las paredes alveolares. A los dos meses el proceso de remodelado sigue todavía activo en la porción más apical del alveolo en la que se puede observar médula ósea inmadura.
2. Las crestas alveolares (linguales y vestibulares) se someten a un intenso proceso de reabsorción tras la extracción, tanto en el caso de alveolos que cicatrizan espontáneamente, como en el caso de colocación inmediata de implantes.
3. Los cambios dimensionales verticales son de mayor entidad en la pared vestibular del alveolo. En caso de colocación inmediata de implante en el centro del alveolo, el remodelado vertical de la tabla vestibular resultó ser cuatro veces mayor que el remodelado de la cresta correspondiente en alveolos que se dejaron cicatrizar espontáneamente.
4. El anchura de las crestas alveolares sufre también una reducción a lo largo de los dos meses de cicatrización. También en este caso es la tabla vestibular que se reduce progresivamente de forma más evidente tanto en el caso de implante colocado inmediatamente después la extracción, como en el caso de los alveolos controles. En la presente investigación, aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas entre implante inmediato y alveolos, la tendencia observada fue hacia una mayor reducción horizontal en el caso de los alveolos con implantes inmediatos.
5. En los estudios histológicos diseñados para el análisis de los cambios dimensionales de las crestas alveolares, parece evidente la necesidad de utilizar referencias fijas, que no cambien su posición a lo largo del proceso de cicatrización. La medición de los cambios dimensionales basada en el uso de una referencia relativa (i.e: cortical lingual) no asegura la obtención de valores ciertos y reproducibles

## X REFERENCIAS

- Agerbaek, M. O., Eriksen, E. F., Kragstrup, J., Mosekilde, L. & Melsen, F. (1991) A reconstruction of the remodelling cycle in normal human cortical iliac bone. *Bone and mineral* **12**, 101-112.
- Ahn, J. J. & Shin, H. I. (2008) Bone tissue formation in extraction sockets from sites with advanced periodontal disease: a histomorphometric study in humans. *The International journal of oral & maxillofacial implants* **23**, 1133-1138.
- Al-Hezaimi, K., Rudek, I., Al-Hamdan, K.S., Javed, F., Nooh, N. & Wang, H.L. (2013) Efficacy of using a dual layer of membrane (dPTFE placed over collagen) for ridge preservation in fresh extraction sites: A micro-computed tomographic study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **24**, 1152–1157.
- Al-Shabeeb, M.S., Al-Askar, M., Al-Rasheed, A., Babay, N., Javed, F., Wang, H.-L. & Al-Hezaimi, K. (2012) Alveolar Bone Remodeling Around Immediate Implants Placed in Accordance With the Extraction Socket Classification: A Three-Dimensional Microcomputed Tomography Analysis. *Journal of Periodontology* **83**, 981–987.
- Alt, V., Kogelmaier, D. V., Lips, K. S., Witt, V., Pacholke, S., Heiss, C., Kampschulte, M., Heinemann, S., Hanke, T., Thormann, U., Schnettler, R. & Langheinrich, A. C. (2011) Assessment of angiogenesis in osseointegration of a silica-collagen biomaterial using 3D-nano-CT. *Acta biomaterialia* **7**, 3773-3779. doi:10.1016/j.actbio.2011.06.024.
- Amir, L. R., Becking, A. G., Jovanovic, A., Perdijk, F. B., Everts, V. & Bronckers, A. L. (2006) Formation of new bone during vertical distraction osteogenesis of the human mandible is related to the presence of blood vessels. *Clinical oral implants research* **17**, 410-416. doi:10.1111/j.1600-0501.2006.01258.x.
- Anneroth, G., Hedström, K.G., Kjellman, O., Köndell, P.-Å. & Nordenram, Å. (1985) Endosseus titanium implants in extraction sockets. An experimental study in monkeys. *International Journal of Oral Surgery* **14**, 50–54.
- Araújo, M.G., Linder, E. & Lindhe, J. (2011) Bio-Oss collagen in the buccal gap at immediate implants: a 6-month study in the dog. *Clinical oral implants research* **22**, 1–8.

- Araújo, M., Linder, E., Wennström, J. & Lindhe, J. (2008) The influence of Bio-Oss Collagen on healing of an extraction socket: an experimental study in the dog. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* **28**, 123–35.
- Araújo, M.G. & Lindhe, J. (2005) Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *Journal of clinical periodontology* **32**, 212–8.
- Araújo, M.G., Sukekava, F., Wennström, J.L. & Lindhe, J. (2005) Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: an experimental study in the dog. *Journal of clinical periodontology* **32**, 645–52.
- Araújo, M.G., Sukekava, F., Wennström, J.L. & Lindhe, J. (2006a) Tissue modeling following implant placement in fresh extraction sockets. *Clinical oral implants research* **17**, 615–24.
- Araújo, M.G., Wennström, J.L. & Lindhe, J. (2006b) Modeling of the buccal and lingual bone walls of fresh extraction sites following implant installation. *Clinical oral implants research* **17**, 606–14.
- Araujo, M. G. & Lindhe, J. (2009) Ridge alterations following tooth extraction with and without flap elevation: an experimental study in the dog. *Clinical oral implants research* **20**, 545-549. doi:10.1111/j.1600-0501.2008.01703.x.
- Atwood, D. A. & Coy, W. A. (1971) Clinical, cephalometric, and densitometric study of reduction of residual ridges. *The Journal of prosthetic dentistry* **26**, 280-295.
- Baldini, G., Ponti, C., Bortul, R., Narducci, P., Grill, V. & Martelli, A. M. (2008) Sparc localizes to the blebs of hobit cells and human primary osteoblasts. *Journal of cellular biochemistry* **104**, 2310-2323. doi:10.1002/jcb.21789.
- Barone, A., Ricci, M., Calvo-Guirado, J.L. & Covani, U. (2011) Bone remodelling after regenerative procedures around implants placed in fresh extraction sockets: an experimental study in Beagle dogs. *Clinical oral implants research* **22**, 1131–7.
- Barone, A., Ricci, M., Tonelli, P., Santini, S. & Covani, U. (2013) Tissue changes of extraction sockets in humans: a comparison of spontaneous healing vs. ridge preservation with secondary soft tissue healing. *Clinical oral implants research* **24**, 1231–7.

- Barzilay, I., Graser, G.N., Iranpour, B. & Proskin, H.M. (1996) Immediate implantation of pure titanium implants into extraction sockets of *Macaca fascicularis*. Part I: Clinical and radiographic assessment. *Int J Oral Maxillofac Implants* **11**, 299–310.
- Blanco, J., Mareque, S., Liñares, A., Pérez, J., Muñoz, F. & Ramos, I. (2013) Impact of immediate loading on early bone healing at two-piece implants placed in fresh extraction sockets: an experimental study in the beagle dog. *Journal of clinical periodontology* **40**, 421–9.
- Blanco, J., Nuñez, V., Aracil, L., Muñoz, F. & Ramos, I. (2008) Ridge alterations following immediate implant placement in the dog: flap versus flapless surgery. *Journal of clinical periodontology* **35**, 640–8.
- Botticelli, D., Persson, L.G., Lindhe, J. & Berglundh, T. (2006) Bone tissue formation adjacent to implants placed in fresh extraction sockets: an experimental study in dogs. *Clinical oral implants research* **17**, 351–8.
- Boyde, A. (2012) Staining plastic blocks with triiodide to image cells and soft tissues in backscattered electron SEM of skeletal and dental tissues. *European cells & materials* **24**, 154–60; discussion 160–1.
- Burger, E.H. & Klein-Nulend, J. (1999) Mechanotransduction in bone--role of the lacuno-canalicular network. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* **13 Suppl**, S101–12.
- Barone, A., Aldini, N. N., Fini, M., Giardino, R., Calvo Guirado, J. L. & Covani, U. (2008) Xenograft versus extraction alone for ridge preservation after tooth removal: a clinical and histomorphometric study. *Journal of periodontology* **79**, 1370-1377. doi:10.1902/jop.2008.070628.
- Blanco, J., Mareque, S., Linares, A. & Munoz, F. (2011) Vertical and horizontal ridge alterations after tooth extraction in the dog: flap vs. flapless surgery. *Clinical oral implants research* **22**, 1255-1258. doi:10.1111/j.1600-0501.2010.02097.x.
- Bragger, U., Schild, U. & Lang, N. P. (1994) Effect of chlorhexidine (0.12%) rinses on periodontal tissue healing after tooth extraction. (II). Radiographic parameters. *Journal of clinical periodontology* **21**, 422-430.

- Brandi, M. L. & Collin-Osdoby, P. (2006) Vascular biology and the skeleton. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* **21**, 183-192. doi:10.1359/JBMR.050917.
- Burger, E. H., Klein-Nulend, J. & Smit, T. H. (2003) Strain-derived canalicular fluid flow regulates osteoclast activity in a remodelling osteon--a proposal. *Journal of biomechanics* **36**, 1453-1459.
- Caneva, M., Botticelli, D., Pantani, F., Baffone, G.M., Rangel, I.G. & Lang, N.P. (2012) Deproteinized bovine bone mineral in marginal defects at implants installed immediately into extraction sockets: an experimental study in dogs. *Clinical oral implants research* **23**, 106–12.
- Caneva, M., Botticelli, D., Salata, L.A., Scombatti Souza, S.L., Carvalho Cardoso, L. & Lang, N.P. (2010a) Collagen membranes at immediate implants: a histomorphometric study in dogs. *Clinical oral implants research* **21**, 891–7.
- Caneva, M., Botticelli, D., Salata, L.A., Souza, S.L.S., Bressan, E. & Lang, N.P. (2010b) Flap vs. ‘flapless’ surgical approach at immediate implants: a histomorphometric study in dogs. *Clinical oral implants research* **21**, 1314–9.
- Caneva, M., Botticelli, D., Stellini, E., Souza, S.L.S., Salata, L.A. & Lang, N.P. (2011) Magnesium-enriched hydroxyapatite at immediate implants: a histomorphometric study in dogs. *Clinical oral implants research* **22**, 512–7.
- Caneva, M., Salata, L.A., de Souza, S.S., Baffone, G., Lang, N.P. & Botticelli, D. (2010c) Influence of implant positioning in extraction sockets on osseointegration: histomorphometric analyses in dogs. *Clinical oral implants research* **21**, 43–9.
- Caneva, M., Salata, L.A., de Souza, S.S., Bressan, E., Botticelli, D. & Lang, N.P. (2010d) Hard tissue formation adjacent to implants of various size and configuration immediately placed into extraction sockets: an experimental study in dogs. *Clinical oral implants research* **21**, 885–90.
- Camargo, P. M., Lekovic, V., Weinlaender, M., Klokkevold, P. R., Kenney, E. B., Dimitrijevic, B., Nedic, M., Jancovic, S. & Orsini, M. (2000) Influence of bioactive glass on changes in alveolar process dimensions after exodontia. *Oral surgery, oral medicine, oral*

*pathology, oral radiology, and endodontics* **90**, 581-586.  
doi:10.1067/moe.2000.110035.

- Cardaropoli, G., Araújo, M. & Lindhe, J. (2003) Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *Journal of clinical periodontology* **30**, 809–18.
- Cardoso, L., Herman, B. C., Verborgt, O., Laudier, D., Majeska, R. J. & Schaffler, M. B. (2009) Osteocyte apoptosis controls activation of intracortical resorption in response to bone fatigue. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* **24**, 597-605. doi:10.1359/jbmr.081210.
- Carlsson, G. E., Thilander, H. & Hedegard, B. (1967) Histologic changes in the upper alveolar process after extractions with or without insertion of an immediate full denture. *Acta odontologica Scandinavica* **25**, 21-43.
- Chao, E. Y. & Inoue, N. (2003) Biophysical stimulation of bone fracture repair, regeneration and remodelling. *European cells & materials* **6**, 72-84; discussion 84-75.
- Chen, Y., Whetstone, H. C., Lin, A. C., Nadesan, P., Wei, Q., Poon, R. & Alman, B. A. (2007) Beta-catenin signaling plays a disparate role in different phases of fracture repair: implications for therapy to improve bone healing. *PLoS medicine* **4**, e249. doi:10.1371/journal.pmed.0040249.
- Coelho, P.G., Marin, C., Granato, R., Bonfante, E.A., Lima, C.P. & Suzuki, M. (2010) Surface treatment at the cervical region and its effect on bone maintenance after immediate implantation: an experimental study in dogs. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* **110**, 182–7.
- Colopy, S. A., Benz-Dean, J., Barrett, J. G., Sample, S. J., Lu, Y., Danova, N. A., Kalscheur, V. L., Vanderby, R., Jr., Markel, M. D. & Muir, P. (2004) Response of the osteocyte syncytium adjacent to and distant from linear microcracks during adaptation to cyclic fatigue loading. *Bone* **35**, 881-891. doi:10.1016/j.bone.2004.05.024.
- Covani, U., Cornelini, R., Calvo, J.L., Tonelli, P. & Barone, A. (2010) Bone remodeling around implants placed in fresh extraction sockets. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* **30**, 601–7.

- Covani, U., Ricci, M., Bozzolo, G., Mangano, F., Zini, A. & Barone, A. (2011) Analysis of the pattern of the alveolar ridge remodelling following single tooth extraction. *Clinical oral implants research* **22**, 820-825. doi:10.1111/j.1600-0501.2010.02060.x.
- Crespi, R., Cappare, P. & Gherlone, E. (2009) Magnesium-enriched hydroxyapatite compared to calcium sulfate in the healing of human extraction sockets: radiographic and histomorphometric evaluation at 3 months. *Journal of periodontology* **80**, 210-218. doi:10.1902/jop.2009.080400.
- Cummings, S. R., San Martin, J., McClung, M. R., Siris, E. S., Eastell, R., Reid, I. R., Delmas, P., Zoog, H. B., Austin, M., Wang, A., Kutilek, S., Adami, S., Zanchetta, J., Libanati, C., Siddhanti, S. & Christiansen, C. (2009) Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *The New England journal of medicine* **361**, 756-765. doi:10.1056/NEJMoa0809493.
- Dai, X. M., Zong, X. H., Akhter, M. P. & Stanley, E. R. (2004) Osteoclast deficiency results in disorganized matrix, reduced mineralization, and abnormal osteoblast behavior in developing bone. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* **19**, 1441-1451. doi:10.1359/JBMR.040514.
- De Sanctis, M., Cortellini, P., Clauser, C. & Pini Prato, G.P. (1988) Coronal displacement of the junctional epithelium and attachment gain following apically positioned flap with bone resective surgery in dogs. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* **8**, 64-76.
- De Sanctis, M., Vignoletti, F., Discepoli, N., Zucchelli, G. & Sanz, M. (2009) Immediate implants at fresh extraction sockets: Bone healing in four different implant systems. *Journal of Clinical Periodontology* **36**, 705-711.
- Ducy, P. (2000) Cbfa1: a molecular switch in osteoblast biology. *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists* **219**, 461-471. doi:10.1002/1097-0177(2000)9999:9999::AID-DVDY1074>3.0.CO;2-C.
- Eghbali-Fatourech, G. Z., Lamsam, J., Fraser, D., Nagel, D., Riggs, B. L. & Khosla, S. (2005) Circulating osteoblast-lineage cells in humans. *The New England journal of medicine* **352**, 1959-1966. doi:10.1056/NEJMoa044264.

- Eriksen, E. F., Gundersen, H. J., Melsen, F. & Mosekilde, L. (1984a) Reconstruction of the formative site in iliac trabecular bone in 20 normal individuals employing a kinetic model for matrix and mineral apposition. *Metabolic bone disease & related research* **5**, 243-252.
- Eriksen, E. F., Hodgson, S. F., Eastell, R., Cedel, S. L., O'Fallon, W. M. & Riggs, B. L. (1990) Cancellous bone remodeling in type I (postmenopausal) osteoporosis: quantitative assessment of rates of formation, resorption, and bone loss at tissue and cellular levels. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* **5**, 311-319. doi:10.1002/jbmr.5650050402.
- Eriksen, E. F., Melsen, F. & Mosekilde, L. (1984b) Reconstruction of the resorptive site in iliac trabecular bone: a kinetic model for bone resorption in 20 normal individuals. *Metabolic bone disease & related research* **5**, 235-242.
- Evans, C.D.J. & Chen, S.T. (2007) Esthetic outcomes of immediate implant placements. *Clinical Oral Implants Research* **19**, 071025001541009-???
- Favero, G., Lang, N.P., De Santis, E., Gonzalez, B.G., Schweikert, M.T. & Botticelli, D. (2013) Ridge preservation at implants installed immediately after molar extraction. An experimental study in the dog. *Clinical oral implants research* **24**, 255–61.
- Ferrus, J., Cecchinato, D., Pjetursson, E.B., Lang, N.P., Sanz, M. & Lindhe, J. (2010) Factors influencing ridge alterations following immediate implant placement into extraction sockets. *Clinical oral implants research* **21**, 22–9.
- Fickl, S., Zuhr, O., Wachtel, H., Stappert, C.F.J., Stein, J.M. & Hürzeler, M.B. (2008) Dimensional changes of the alveolar ridge contour after different socket preservation techniques. *Journal of clinical periodontology* **35**, 906–13.
- Fiorellini, J. P., Howell, T. H., Cochran, D., Malmquist, J., Lilly, L. C., Spagnoli, D., Toljanic, J., Jones, A. & Nevins, M. (2005) Randomized study evaluating recombinant human bone morphogenetic protein-2 for extraction socket augmentation. *Journal of periodontology* **76**, 605-613. doi:10.1902/jop.2005.76.4.605.
- Grimes, R., Jepsen, K. J., Fitch, J. L., Einhorn, T. A. & Gerstenfeld, L. C. (2011) The transcriptome of fracture healing defines mechanisms of coordination of skeletal

and vascular development during endochondral bone formation. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* **26**, 2597-2609. doi:10.1002/jbmr.486.

Hämmerle, C.H.F., Chen, S.T. & Wilson, T.G. (2004) Consensus statements and recommended clinical procedures regarding the placement of implants in extraction sockets. *The International journal of oral & maxillofacial implants* **19 Suppl**, 26–8.

Hankenson, K. D., Dishowitz, M., Gray, C. & Schenker, M. (2011) Angiogenesis in bone regeneration. *Injury* **42**, 556-561. doi:10.1016/j.injury.2011.03.035.

Hauge, E. M., Qvesel, D., Eriksen, E. F., Mosekilde, L. & Melsen, F. (2001) Cancellous bone remodeling occurs in specialized compartments lined by cells expressing osteoblastic markers. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* **16**, 1575-1582. doi:10.1359/jbmr.2001.16.9.1575.

Heberer, S., Al-Chawaf, B., Jablonski, C., Nelson, J. J., Lage, H. & Nelson, K. (2011) Healing of ungrafted and grafted extraction sockets after 12 weeks: a prospective clinical study. *The International journal of oral & maxillofacial implants* **26**, 385-392.

Henriksen, K., Leeming, D. J., Byrjalsen, I., Nielsen, R. H., Sorensen, M. G., Dziegiel, M. H., Martin, T. J., Christiansen, C., Qvist, P. & Karsdal, M. A. (2007) Osteoclasts prefer aged bone. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* **18**, 751-759. doi:10.1007/s00198-006-0298-4.

Hermey, D. C., Popoff, S. N. & Marks, S. C., Jr. (1996) Reduced bone resorption in toothless (osteopetrotic) rats--an abnormality of osteoblasts related to their inability to activate osteoclast activity in vitro. *Connective tissue research* **35**, 273-278.

Hill, T. P., Spater, D., Taketo, M. M., Birchmeier, W. & Hartmann, C. (2005) Canonical Wnt/beta-catenin signaling prevents osteoblasts from differentiating into chondrocytes.

lasella, J. M., Greenwell, H., Miller, R. L., Hill, M., Drisko, C., Bohra, A. A. & Scheetz, J. P. (2003) Ridge preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: a clinical and histologic

study in humans. *Journal of periodontology* **74**, 990-999. doi:10.1902/jop.2003.74.7.990.

- Ignatius, A., Ehrnthaller, C., Brenner, R. E., Kreja, L., Schoengraf, P., Lisson, P., Blakytyn, R., Recknagel, S., Claes, L., Gebhard, F., Lambris, J. D. & Huber-Lang, M. (2011) The anaphylatoxin receptor C5aR is present during fracture healing in rats and mediates osteoblast migration in vitro. *The Journal of trauma* **71**, 952-960. doi:10.1097/TA.0b013e3181f8aa2d.
- Jeon, M. J., Kim, J. A., Kwon, S. H., Kim, S. W., Park, K. S., Park, S. W., Kim, S. Y. & Shin, C. S. (2003) Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma inhibits the Runx2-mediated transcription of osteocalcin in osteoblasts. *The Journal of biological chemistry* **278**, 23270-23277. doi:10.1074/jbc.M211610200.
- Johnson, K. (1969) A study of the dimensional changes occurring in the maxilla following tooth extraction. *Australian dental journal* **14**, 241-244.
- Kaigler, D., Krebsbach, P. H., Polverini, P. J. & Mooney, D. J. (2003) Role of vascular endothelial growth factor in bone marrow stromal cell modulation of endothelial cells. *Tissue engineering* **9**, 95-103. doi:10.1089/107632703762687573.
- Kanyama, M., Kuboki, T., Akiyama, K., Nawachi, K., Miyauchi, F. M., Yatani, H., Kubota, S., Nakanishi, T. & Takigawa, M. (2003) Connective tissue growth factor expressed in rat alveolar bone regeneration sites after tooth extraction. *Archives of oral biology* **48**, 723-730.
- Karabuda, C., Sandalli, P., Yalcin, S., Steflik, D.E. & Parr, G.R. Histologic and histomorphometric comparison of immediately placed hydroxyapatite-coated and titanium plasma-sprayed implants: a pilot study in dogs. *The International journal of oral & maxillofacial implants* **14**, 510-5.
- Karsdal, M. A., Martin, T. J., Bollerslev, J., Christiansen, C. & Henriksen, K. (2007) Are nonresorbing osteoclasts sources of bone anabolic activity? *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* **22**, 487-494. doi:10.1359/jbmr.070109.
- Karsenty, G. (2000) Role of Cbfa1 in osteoblast differentiation and function. *Seminars in cell & developmental biology* **11**, 343-346. doi:10.1006/scdb.2000.0188.

- Kerr, E. N., Mealey, B. L., Noujeim, M. E., Lasho, D. J., Nummikoski, P. V. & Mellonig, J. T. (2008) The effect of ultrasound on bone dimensional changes following extraction: a pilot study. *Journal of periodontology* **79**, 283-290. doi:10.1902/jop.2008.070289.
- Khosla, S. (2001) Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology* **142**, 5050-5055.
- Komori, T., Yagi, H., Nomura, S., Yamaguchi, A., Sasaki, K., Deguchi, K., Shimizu, Y., Bronson, R. T., Gao, Y. H., Inada, M., Sato, M., Okamoto, R., Kitamura, Y., Yoshiki, S. & Kishimoto, T. (1997) Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell* **89**, 755-764.
- Kurata, K., Heino, T. J., Higaki, H. & Vaananen, H. K. (2006) Bone marrow cell differentiation induced by mechanically damaged osteocytes in 3D gel-embedded culture. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* **21**, 616-625. doi:10.1359/jbmr.060106.
- Lekovic, V., Camargo, P. M., Klokkevold, P. R., Weinlaender, M., Kenney, E. B., Dimitrijevic, B. & Nedic, M. (1998) Preservation of alveolar bone in extraction sockets using bioabsorbable membranes. *Journal of periodontology* **69**, 1044-1049. doi:10.1902/jop.1998.69.9.1044.
- Lekovic, V., Kenney, E. B., Weinlaender, M., Han, T., Klokkevold, P., Nedic, M. & Orsini, M. (1997) A bone regenerative approach to alveolar ridge maintenance following tooth extraction. Report of 10 cases. *Journal of periodontology* **68**, 563-570. doi:10.1902/jop.1997.68.6.563.
- Li, G., Cui, Y., McIlmurray, L., Allen, W. E. & Wang, H. (2005) rhBMP-2, rhVEGF(165), rhPTN and thrombin-related peptide, TP508 induce chemotaxis of human osteoblasts and microvascular endothelial cells. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society* **23**, 680-685. doi:10.1016/j.orthres.2004.12.005.
- Li, J., Mashiba, T. & Burr, D. B. (2001) Bisphosphonate treatment suppresses not only stochastic remodeling but also the targeted repair of microdamage. *Calcified tissue international* **69**, 281-286.
- Lian, J. B., Stein, G. S., Javed, A., van Wijnen, A. J., Stein, J. L., Montecino, M., Hassan, M. Q., Gaur, T., Lengner, C. J. & Young, D. W. (2006) Networks and hubs for the transcriptional control of osteoblastogenesis. *Reviews in endocrine & metabolic disorders* **7**, 1-16. doi:10.1007/s11154-006-9001-5.

- Lienau, J., Schmidt-Bleek, K., Peters, A., Haschke, F., Duda, G. N., Perka, C., Bail, H. J., Schutze, N., Jakob, F. & Schell, H. (2009) Differential regulation of blood vessel formation between standard and delayed bone healing. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society* **27**, 1133-1140. doi:10.1002/jor.20870.
- Lin, W. L., McCulloch, C. A. & Cho, M. I. (1994) Differentiation of periodontal ligament fibroblasts into osteoblasts during socket healing after tooth extraction in the rat. *The Anatomical record* **240**, 492-506. doi:10.1002/ar.1092400407.
- Lundgren, D., Rylander, H., Andersson, M., Johansson, C. & Albrektsson, T. (1992) Healing-in of root analogue titanium implants placed in extraction sockets. An experimental study in the beagle dog. *Clinical oral implants research* **3**, 136–43.
- Marotti, G., Ferretti, M., Muglia, M. A., Palumbo, C. & Palazzini, S. (1992) A quantitative evaluation of osteoblast-osteocyte relationships on growing endosteal surface of rabbit tibiae. *Bone* **13**, 363-368.
- Martin, R.B. (2000) Toward a unifying theory of bone remodeling. *Bone* **26**, 1–6.
- Mizutani, H. & Ishihata, N. (1976) Decrease and increase in residual ridges after extraction of teeth in monkeys (part I). *The Bulletin of Tokyo Medical and Dental University* **23**, 157-168.
- Mohan, S. & Baylink, D. J. (1996) Insulin-like growth factor system components and the coupling of bone formation to resorption. *Hormone research* **45 Suppl 1**, 59-62.
- Moya-Villaescusa, M.J. & Sánchez-Pérez, A. (2010) Measurement of ridge alterations following tooth removal: A radiographic study in humans. *Clinical Oral Implants Research* **21**, 237–242.
- Murshed, M., Harmey, D., Millan, J. L., McKee, M. D. & Karsenty, G. (2005) Unique coexpression in osteoblasts of broadly expressed genes accounts for the spatial restriction of ECM mineralization to bone. *Genes & development* **19**, 1093-1104. doi:10.1101/gad.1276205.
- Nahles, S., Nack, C., Gratecap, K., Lage, H., Nelson, J. J. & Nelson, K. (2013) Bone physiology in human grafted and non-grafted extraction sockets--an immunohistochemical

- study. *Clinical oral implants research* **24**, 812-819. doi:10.1111/j.1600-0501.2012.02462.x.
- Nakashima, K., Zhou, X., Kunkel, G., Zhang, Z., Deng, J. M., Behringer, R. R. & de Crombrughe, B. (2002) The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation. *Cell* **108**, 17-29.
- Nakata, E., Nakanishi, T., Kawai, A., Asaumi, K., Yamaai, T., Asano, M., Nishida, T., Mitani, S., Inoue, H. & Takigawa, M. (2002) Expression of connective tissue growth factor/hypertrophic chondrocyte-specific gene product 24 (CTGF/Hcs24) during fracture healing. *Bone* **31**, 441-447.
- Paolantonio, M., Dolci, M., Scarano, A., D'Archivio, D., Placido, G. Di, Tumini, V. & Piattelli, A. (2001) Immediate Implantation in Fresh Extraction Sockets. A Controlled Clinical and Histological Study in Man. *Journal of Periodontology* **72**, 1560–1571.
- Parfitt, A. M. (2000) The mechanism of coupling: a role for the vasculature. *Bone* **26**, 319-323. doi:10.1016/S8756-3282(00)80937-0.
- Peters, K., Unger, R. E., Brunner, J. & Kirkpatrick, C. J. (2003) Molecular basis of endothelial dysfunction in sepsis. *Cardiovascular research* **60**, 49-57.
- Piattelli, A., Vrespa, G., Petrone, G., Iezzi, G., Annibali, S. & Scarano, A. (2003) Role of the microgap between implant and abutment: a retrospective histologic evaluation in monkeys. *Journal of periodontology* **74**, 346–52.
- Pietrokovski, J. & Massler, M. (1967) Alveolar ridge resorption following tooth extraction. *The Journal of prosthetic dentistry* **17**, 21-27.
- Pittenger, M. F., Mackay, A. M., Beck, S. C., Jaiswal, R. K., Douglas, R., Mosca, J. D., Moorman, M. A., Simonetti, D. W., Craig, S. & Marshak, D. R. (1999) Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* **284**, 143-147.
- Qahash, M., Susin, C., Polimeni, G., Hall, J. & Wikesjö, U.M.E. (2008) Bone healing dynamics at buccal peri-implant sites. *Clinical oral implants research* **19**, 166–72.
- Qin, L., Qiu, P., Wang, L., Li, X., Swarthout, J. T., Soteropoulos, P., Tolias, P. & Partridge, N. C. (2003) Gene expression profiles and transcription factors involved in parathyroid

- hormone signaling in osteoblasts revealed by microarray and bioinformatics. *The Journal of biological chemistry* **278**, 19723-19731. doi:10.1074/jbc.M212226200.
- Qu, D., Li, J., Li, Y., Gao, Y., Zuo, Y., Hsu, Y. & Hu, J. (2011) Angiogenesis and osteogenesis enhanced by bFGF ex vivo gene therapy for bone tissue engineering in reconstruction of calvarial defects. *Journal of biomedical materials research. Part A* **96**, 543-551. doi:10.1002/jbm.a.33009
- Ralston, S. H., Ho, L. P., Helfrich, M. H., Grabowski, P. S., Johnston, P. W. & Benjamin, N. (1995) Nitric oxide: a cytokine-induced regulator of bone resorption. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* **10**, 1040-1049. doi:10.1002/jbmr.5650100708.
- Reid, I. R., Miller, P. D., Brown, J. P., Kendler, D. L., Fahrleitner-Pammer, A., Valter, I., Maasalu, K., Bolognese, M. A., Woodson, G., Bone, H., Ding, B., Wagman, R. B., San Martin, J., Ominsky, M. S. & Dempster, D. W. (2010) Effects of denosumab on bone histomorphometry: the FREEDOM and STAND studies. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research* **25**, 2256-2265. doi:10.1002/jbmr.149.
- Rho, J.Y., Zioupos, P., Currey, J.D. & Pharr, G.M. (2002) Microstructural elasticity and regional heterogeneity in human femoral bone of various ages examined by nano-indentation. *Journal of biomechanics* **35**, 189–98.
- Robinson, J. A., Chatterjee-Kishore, M., Yaworsky, P. J., Cullen, D. M., Zhao, W., Li, C., Kharode, Y., Sauter, L., Babij, P., Brown, E. L., Hill, A. A., Akhter, M. P., Johnson, M. L., Recker, R. R., Komm, B. S. & Bex, F. J. (2006) Wnt/beta-catenin signaling is a normal physiological response to mechanical loading in bone. *The Journal of biological chemistry* **281**, 31720-31728. doi:10.1074/jbc.M602308200.
- Ryu, J., Kim, H. J., Chang, E. J., Huang, H., Banno, Y. & Kim, H. H. (2006) Sphingosine 1-phosphate as a regulator of osteoclast differentiation and osteoclast-osteoblast coupling. *The EMBO journal* **25**, 5840-5851. doi:10.1038/sj.emboj.7601430.
- Saldanha, J. B., Casati, M. Z., Neto, F. H., Sallum, E. A. & Nociti, F. H., Jr. (2006) Smoking may affect the alveolar process dimensions and radiographic bone density in maxillary extraction sites: a prospective study in humans. *Journal of oral and maxillofacial*

*surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons* **64**, 1359-1365. doi:10.1016/j.joms.2006.05.021.

Sato, H. & Takeda, Y. (2007) Proliferative activity, apoptosis, and histogenesis in the early stages of rat tooth extraction wound healing. *Cells, tissues, organs* **186**, 104-111. doi:10.1159/000103513.

Saffar, J.L., Lasfargues, J.J. & Cherruau, M. (1997) Alveolar bone and the alveolar process: the socket that is never stable. *Periodontology 2000* **13**, 76–90.

Sanz, M., Cecchinato, D., Ferrus, J., Pjetursson, E.B., Lang, N.P. & Lindhe, J. (2010) A prospective, randomized-controlled clinical trial to evaluate bone preservation using implants with different geometry placed into extraction sockets in the maxilla. *Clinical Oral Implants Research* **21**, 13–21.

Scala, A., Lang, N.P., Schweikert, M.T., de Oliveira, J.A., Rangel-Garcia, I. & Botticelli, D. (2014) Sequential healing of open extraction sockets. An experimental study in monkeys. *Clinical oral implants research* **25**, 288–95.

Spinato, S., Galindo-Moreno, P., Zaffe, D., Bernardello, F. & Soardi, C.M. (2014) Is socket healing conditioned by buccal plate thickness? A clinical and histologic study 4 months after mineralized human bone allografting. *Clinical oral implants research* **25**, e120–6.

Scholz, D. & Schaper, J. (1997) Platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (PECAM-1) is localized over the entire plasma membrane of endothelial cells. *Cell and tissue research* **290**, 623-631.

Schropp, L., Wenzel, A., Kostopoulos, L. & Karring, T. (2003) Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* **23**, 313-323.

Schulte, W. & Heimke, G. (1976) [The Tübinger immediate implant]. *Die Quintessenz* **27**, 17 – 23.

Seeman, E. (2003) Periosteal Bone Formation — A Neglected Determinant of Bone Strength. *New England Journal of Medicine* **349**, 320–323.

- Serino, G., Biancu, S., Iezzi, G. & Piattelli, A. (2003) Ridge preservation following tooth extraction using a polylactide and polyglycolide sponge as space filler: a clinical and histological study in humans. *Clinical oral implants research* **14**, 651-658.
- Silvestrini, G., Ballanti, P., Patacchioli, F., Leopizzi, M., Gualtieri, N., Monnazzi, P., Tremante, E., Sardella, D. & Bonucci, E. (2005) Detection of osteoprotegerin (OPG) and its ligand (RANKL) mRNA and protein in femur and tibia of the rat. *Journal of molecular histology* **36**, 59-67. doi:10.1007/s10735-004-3839-1.
- Spencer, G. J., Utting, J. C., Etheridge, S. L., Arnett, T. R. & Genever, P. G. (2006) Wnt signalling in osteoblasts regulates expression of the receptor activator of NFkappaB ligand and inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Journal of cell science* **119**, 1283-1296. doi:10.1242/jcs.02883.
- Spinato, S., Galindo-Moreno, P., Zaffe, D., Bernardello, F. & Soardi, C.M. (2014) Is socket healing conditioned by buccal plate thickness? A clinical and histologic study 4 months after mineralized human bone allografting. *Clinical oral implants research* **25**, e120–6.
- Tan, W. L., Wong, T. L., Wong, M. C. & Lang, N. P. (2012) A systematic review of post-extraction alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clinical oral implants research* **23 Suppl 5**, 1-21. doi:10.1111/j.1600-0501.2011.02375.x.
- Teplyuk, N. M., Haupt, L. M., Ling, L., Dombrowski, C., Mun, F. K., Nathan, S. S., Lian, J. B., Stein, J. L., Stein, G. S., Cool, S. M. & van Wijnen, A. J. (2009) The osteogenic transcription factor Runx2 regulates components of the fibroblast growth factor/proteoglycan signaling axis in osteoblasts. *Journal of cellular biochemistry* **107**, 144-154. doi:10.1002/jcb.22108.
- Tomasi, C., Sanz, M., Cecchinato, D., Pjetursson, B., Ferrus, J., Lang, N.P. & Lindhe, J. (2010) Bone dimensional variations at implants placed in fresh extraction sockets: A multilevel
- Trombelli, L., Farina, R., Marzola, A., Bozzi, L., Liljenberg, B. & Lindhe, J. (2008) Modeling and remodeling of human extraction sockets. *Journal of clinical periodontology* **35**, 630-639. doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01246.x.
- Van der Weijden, F., Dell'Acqua, F. & Slot, D. E. (2009) Alveolar bone dimensional changes of post-extraction sockets in humans: a systematic review. *Journal of clinical periodontology* **36**, 1048-1058. doi:10.1111/j.1600-051X.2009.01482.x.

- Vignoletti, F., Discepoli, N., Müller, A., De Sanctis, M., Muñoz, F. & Sanz, M. (2012) Bone modelling at fresh extraction sockets: Immediate implant placement versus spontaneous healing. An experimental study in the beagle dog. *Journal of Clinical Periodontology* **39**, 91–97.
- Vignoletti, F., De Sanctis, M., Berglundh, T., Abrahamsson, I. & Sanz, M. (2009) Early healing of implants placed into fresh extraction sockets: An experimental study in the beagle dog. II: Ridge alterations. *Journal of Clinical Periodontology* **36**, 688–697.
- Veillette, C. J. & von Schroeder, H. P. (2004) Endothelin-1 down-regulates the expression of vascular endothelial growth factor-A associated with osteoprogenitor proliferation and differentiation. *Bone* **34**, 288-296. doi:10.1016/j.bone.2003.10.009.
- Westendorf, J. J., Kahler, R. A. & Schroeder, T. M. (2004) Wnt signaling in osteoblasts and bone diseases. *Gene* **341**, 19-39. doi:10.1016/j.gene.2004.06.044.
- Wilson, T.G., Schenk, R., Buser, D. & Cochran, D. Implants placed in immediate extraction sites: a report of histologic and histometric analyses of human biopsies. *The International journal of oral & maxillofacial implants* **13**, 333–41.
- Xiong, H., Rabie, A. B. & Hagg, U. (2005) Neovascularization and mandibular condylar bone remodeling in adult rats under mechanical strain. *Frontiers in bioscience : a journal and virtual library* **10**, 74-82.
- Yasui, N., Sato, M., Ochi, T., Kimura, T., Kawahata, H., Kitamura, Y. & Nomura, S. (1997) Three modes of ossification during distraction osteogenesis in the rat. *The Journal of bone and joint surgery. British volume* **79**, 824-830.
- Zhao, C., Irie, N., Takada, Y., Shimoda, K., Miyamoto, T., Nishiwaki, T., Suda, T. & Matsuo, K. (2006) Bidirectional ephrinB2-EphB4 signaling controls bone homeostasis. *Cell metabolism* **4**, 111-121. doi:10.1016/j.cmet.2006.05.012.

## **XI ANEXO: Resumen en inglés**

### **“FRESH EXTRACTION SOCKET: SPONTANEOUS HEALING VS IMMEDIATE IMPLANT”**

#### **INTRODUCTION**

The alveolar process is a tooth-dependent bone structure that develops in conjunction with the process of tooth eruption. When teeth are lost or extracted, a concomitant process of bone modelling and remodelling results in significant changes in both the width and height of the resulting alveolar crest, being the buccal wall more affected than the lingual/palatal wall. These morphologic changes in the alveolar ridge were investigated in the sixties to accurately design the appropriate prosthetic rehabilitation. The precise histological events, however, have been identified recently in well-designed pre-clinical models. These studies have described a cascade of events occurring immediately after tooth extraction starting with the formation and maturation of a blood clot in the interior of the socket. This blood clot in direct contact with the mineralized socket bone walls is soon replaced by a provisional connective tissue matrix, which is progressively converted after 2 weeks of healing into woven bone, lamellar bone and bone marrow.

In this pre-clinical model after 60 days of healing the coronal opening of the socket is filled with a bridge of cortical bone, thus forming a continuous alveolar ridge. In this ridge the height of the mesio-distal dimension is fully preserved, mainly when the adjacent teeth are present as their periodontal ligament will always preserve the mesial and distal bone levels. The bucco- lingual dimension, however, will suffer significant volume alterations during the first months of healing, mainly affecting the most coronal third of the socket itself.

Several authors using pre clinical models studied the early healing events in the alveolar ridge, and the reported dimensional bone changes have varied among the literature. This heterogeneity in the patterns of alveolar bone resorption after tooth extraction has also been reported in clinical human studies

In recent years, immediate implant placement after tooth extraction (Type 1 implant placement protocol) has become a common surgical protocol in daily practice. The advocates for this procedure have argued that by reducing the surgical exposure, a more limited physiological bone resorption will occur after tooth extraction and implant installation. The histological studies, both in humans and in animals evaluating the healing of implants placed into fresh extraction sockets when compared to implants placed in

healed crests, have documented a similar pattern of osseointegration. The healing of the alveolar ridge after tooth extraction has been documented in dogs evidencing a physiologic process of bone modelling and remodelling leading to horizontal and vertical resorption of the buccal socket wall. When implants have been placed immediately upon tooth extraction, different studies have documented, however, varied dimensional changes, with a mean buccal bone resorption ranging between 3.14 mm to 0.1 mm. This high variability may be explained by the use of different pre-clinical models, different healing times, different implant diameters and geometries, as well as different surgical protocols. Another confounding factor is the influence of raising a flap and exposing the underlying crestal bone.

In light of this variability it is unclear whether the placement of an immediate implant may have any advantage in terms of hard and soft tissue preservation over leaving the socket to heal spontaneously. Only one experimental animal study has made a direct comparison by studying the healing process of fresh extraction sockets with and without immediate implant placement.

Similarly, in prospective clinical studies, a loss of volume in horizontal dimension, ranging from 35% to 55%, were shown associated with the immediate placement of a dental implant. The clinical efficacy of this therapeutic protocol was recently evaluated by a systematic review demonstrating a cumulative implant survival rate of 98.4% at 2 years, which is comparable with the conventional implant protocols at 5 years. Moreover, long-term prospective studies have shown good clinical outcomes, both in terms of maintenance of inter-dental crestal bone levels and aesthetic results. Nevertheless, the question remains as to whether, in spite of these expected bone volumetric changes occurring after immediate implant placement, this therapeutic protocol represents an advantage in terms of ridge preservation, when compared with the spontaneous healing of the socket.

#### OBJECTIVE

The objectives of this work were to describe the histological outcomes at six weeks of fresh extraction sockets left to heal spontaneously and to compare these outcomes with the healing of adjacent sockets where implants were immediately inserted (Paper 1); to describe the histological early healing events in the alveolar socket after tooth extraction and to measure histometrically the vertical and horizontal bone changes that occur in the bone walls (Paper 2); to evaluate histologically the early healing events and precise

dimensional alterations of sockets where an immediate implant has been placed and then compare these changes with those occurring at the adjacent sockets, which were allowed to heal spontaneously (Paper 3).

#### MATERIAL, METHODS AND RESULTS

The first paper consisted in a preclinical model in which eight beagle dogs were used as experimental units. After extraction of the 3P3 and 4P4 implants were inserted into the distal sockets of the premolars, while the mesial sockets were left to heal spontaneously. Each animal provided four socket sites (control) and four implant sites (test). After 6 weeks, animals were sacrificed and tissue blocks were dissected, prepared for ground sectioning. The relative buccal bone loss at implant sites was similar to that at edentulous sites, amounting to 0.92 (SD 0.50) and 1.20 (SD 0.76) mm respectively. The implant sites, however, demonstrated a significant buccal bone apical displacement with a mean distance between the implant shoulder and the coronal bone crest of 2.32 (SD 0.36) mm. When comparing the absolute bone loss at the implant site with the relative bone loss at the socket site the differences were statistically significant ( $p < 0.05$ ).

The second paper allowed us to describe thoroughly the biologic events and the hard tissue modifications that take part after tooth extraction, from a very early period of healing (4 hours). 16 adult beagle dogs were selected and five healing periods were analysed (4 h, 1 week, 2 weeks, 4 weeks, 8 weeks). Mandibular premolars were extracted and each socket corresponding to the mesial root was left to heal undisturbed. In each healing period, three animals were euthanatized, each providing four study sites. Healing was assessed by descriptive histology and by histometric analysis using as landmarks: the vertical distance between buccal and lingual crest (B'L') and the width of buccal and lingual walls at three different levels. Differences between means for each variable for each healing period were compared. Four hours after the surgery B'L' was 0.45 (SD 0.18) mm showing a progressive reduction reaching 0.18 (SD 0.08) mm at 8 weeks. When the changes in this dimension were compared during the five healing periods, no statistically significant differences were observed (ANOVA;  $p = 0.1032$ ). The lingual crest was wider than the buccal bone crest during all the experimental period analysed. In the buccal crest, the mean percentage of bone width resorption between baseline and 8 weeks at w1, w2 and w3 was 43%, 39% and 15% respectively. Conversely, no variation in width was observed at the lingual bone crest at Lw1 and Lw2 after 8 weeks of healing in comparison with baseline (4 hours). A reduction of

11% was observed at Lw3.

To accomplish our third objective we design a preclinical model In a beagle dog model (N = 16 dogs), mandibular premolars were extracted, and implants were placed in each distal socket (test) with the corresponding mesial site left to heal undisturbed (control). Healing was assessed measuring both the vertical distance between buccal and lingual crest (B'L') and the width of buccal and lingual walls at different levels. Five healing periods were evaluated. Differences between means for each variable and for each healing period between test and control were compared (Kruskal–Wallis test; Friedman test). Results: At 2 and 8 weeks of healing, the B'L' distance revealed significant higher values at test compared to control sites, being this difference three times higher at the end of the study ( $P < 0.05$ ). In the test group, the width of the crest was reduced between baseline (0.37 [0.04]) and 8 weeks healing (0.13 [0.64]), demonstrating a 62% reduction of the initial width. These differences were not observed in the control group.

## CONCLUSIONS

Taking in to consideration the results observed in the three experimental studies previously described and following their specific objectives we can conclude that:

- 1) the histometric results from the 6 weeks animal experimental study have shown that the buccal socket wall undergoes bone resorption in both the sockets healing spontaneously and in those where an implant was immediately inserted. The limitations within this experimental model and the utilized histometric analysis do not allow us to draw a definite conclusion, but if we combined data from historical controls reported in the literature and the data from this investigation, we could imply that buccal bone resorption was more pronounced at the implant sites, which may suggest that placement of implants in fresh extraction sockets not only does not counteract the remodelling of the socket walls, but eventually, it may contribute towards a more pronounced bone resorption at this early time point in healing.
- 2) The histological sequence described in the current investigation coincides with the previous descriptions of similar experimental models. At the 4-weeks specimens, in the apical third of the socket the percentage of mineralized tissue decreased with the progressive formation of an immature bone marrow characterized by large marrow spaces, filled with vessels, adipocytes and mesenchymal cells. At 8-weeks the mean percentage of mineralized tissue within the sockets was only 39%. The healing was characterized by

vertical bone reduction in both the buccal and lingual walls and a marked horizontal reduction at the buccal bone wall in the most coronal aspect accounting for about 40% of its initial dimension.

3) Within the intrinsic limitations of this pre-clinical model, it was demonstrated that during early healing, immediate implant placement not only did not prevent the expected physiological bone remodelling after tooth extraction, but further seems to disturb the healing process leading to a more pronounced bone remodelling, mostly affecting the vertical dimensions of the buccal bone wall.