

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Studii comparative asupra managementului alveolelor postextraționale

Doctorand **Cosmin Vasile Cioban**

Conducător de doctorat Prof. dr. **Radu Septimiu Câmpian**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE	13
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	
1. Resorbția osoasă postextractională și preservarea alveolară	19
1.1. Aspecte generale	19
1.2. Tipuri de materiale folosite în preservarea alveolară	20
1.3. Dinamica procesului de vindecare al alveolelor postextractionale	21
2. Preservarea alveolară în studii umane. Aspecte histologice	25
2.1. Aspecte histologice asociate folosirii materialelor de grefare	25
2.2. Aspecte histologice asociate folosirii membranelor	28
2.3. Aspecte histologice asociate folosirii combinate de materiale	29
2.4. Agenți bioactivi folosiți în preservarea alveolară	32
2.5. Factori care influențează vindecarea alveolelor postextractionale	34
3. Tehnici chirurgicale de preservare alveolară	37
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	
1. Ipoteza de lucru/obiective	47
2. Metodologie generală. Dezvoltarea unui model preclinic pentru evaluarea rezultatelor tehnicilor de preservare alveolară	49
3. Studiul 1 - Studiu preclinic asupra vindecării precoce a alveolelor postextractionale preservate cu o nouă matrice de colagen	63
3.1. Introducere	63
3.2. Ipoteza de lucru/obiective	63
3.3. Material și metodă	63
3.4. Rezultate	64
3.5. Discuții	74
3.6. Concluzii	76
4. Studiul 2 - Evaluarea modificărilor osoase postextractionale tardive asociate preservării alveolare cu o nouă matrice 3D de colagen: un studiu animal	77
4.1. Introducere	77
4.2. Ipoteza de lucru/obiective	77
4.3. Material și metodă	78
4.4. Rezultate	82
4.5. Discuții	84
4.6. Concluzii	86
5. Studiul 3 - Studiu preclinic asupra remodelării tardive a	87

Țesuturilor moi după prezervarea alveolară folosind o nouă matrice 3D de colagen

5.1. Introducere	87
5.2. Ipoteza de lucru/obiective	87
5.3. Material și metodă	89
5.4. Rezultate	89
5.5. Discuții	92
5.6. Concluzii	95
6. Concluzii generale	97
7. Originalitatea și contribuțiile inovative ale tezei	99
REFERINȚE	101

Cuvinte cheie: os alveolar, membrană de colagen, prezervare alveolară, vindecarea plăgii, animal

INTRODUCERE

Cercetările derulate în cadrul prezentei teze de doctorat și-au propus să investigheze o serie de aspecte rămase neclarificate în prezent asociate resorbției osoase postextractionale și preservării alveolare. Stadiul actual al cunoașterii, relevat de literatura de specialitate legat de această topică susține alterarea dimensională a crestei alveolare consecutivă extracției dinților. Resorbția crestei osoase alveolare postextractional este un fenomen inevitabil și extrem de bine documentat și care duce la scăderea dimensiunilor crestale, cu modificări mai marcate ale compartimentului osos vestibular decât a celui oral, ceea ce antrenează complicații ale reabilitărilor ulterioare.

Din datele furnizate de literatura de specialitate a derivat necesitatea de aplicare clinică a unor procedee care să prevină reducerea dimensiunilor osoase după extracție și să asigure derularea ulterioară a unor tratamente de reabilitare mai previzibile . Astfel, la ora actuală există dovezi puternice că tehnicile care folosesc substitute osoase și/sau membrane pentru preservarea alveolelor postextractionale determină conservarea semnificativă a unei părți din dimensiunile osoase orizontale și verticale ale alveolelor, majoritatea materialelor fiind eficiente. La ora actuală însă, literatura de specialitate nu poate preciza superioritatea vreunui material în raportul cu altele și nu poate furniza un ghid clar referitor la tipul de material care să fie folosit în tehnicile de preservare alveolară.

Având în vedere golul de informație semnalat de literatura de specialitate în acest domeniu de interes, prezenta teza de doctorat și-a propus să evalueze eficiența unor tehnici de preservare alveolară asupra modificărilor țesuturilor dure și moi, după extracția dinților, în faze precece și tardive de vindecare. Tehnicile propuse de cercetările derulate în cadrul studiilor doctorale s-au bazat pe protocoale care au folosit o nouă matrice de colagen tridimensională (3D) ale cărei indicații inițiale nu au inclus preservarea alveolară. Folosirea acestei matrici 3D de grosime crescută față de membranele clasice am considerat că poate crește funcția de protecție și izolare alveolară în cursul perioadei de vindecare postextractională și astfel, cantitatea de os nou format și preservat. În plus, având în vedere efectul crescut de menținător de spațiu care poate fi conferit de noua matrice, datorită grosimii mai mari în comparație cu membranele simple, cercetările noastre au propus ipoteza unei augmentări a dimensiunii țesutului moale crestal asociată folosirii noii matrici 3D față de tehnicile convenționale. Cercetările au fost derulate pe un model animal canin, dezvoltat de echipa noastră de cercetare.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Ipoteza de lucru

Studiile doctorale și-au propus derularea unui set amplu de cercetări preclinice originale, care să evalueze vindecarea postextractională după prezervarea cu o nouă matrice 3D de colagen, singură sau asociată cu alte biomateriale, folosind un model animal canin.

Obiectivele cercetării

1. Dezvoltarea unui model animal care se fie folosit pentru studiul vindecării post-extracționale
2. Aprecierea fenomenelor de vindecare precoce ale alveolelor post-extracționale prezervate cu noua matrice 3D de colagen
3. Compararea fenomenelor de vindecare precoce ale alveolelor post-extracționale prezervate cu noua matrice 3D de colagen asociată cu alte biomateriale
4. Aprecierea calitativă și cantitativă a modificărilor osoase tardive ale alveolelor post-extracționale prezervate cu noua matrice 3D de colagen asociată cu alte biomateriale
5. Aprecierea modificărilor țesuturile moi acoperitoare ale alveolelor post-extracționale prezervate cu noua matrice 3D de colagen asociată cu alte biomateriale

Studiul 1. Studiu preclinic asupra vindecării precoce a alveolelor postextractionale prezervate cu o nouă matrice de colagen

Introducere

Scopul studiului prezent a fost de a investiga procesele de vindecare precoce derulate la nivelul alveolelor postextractionale prezervate cu noua matrice 3D de colagen asociată cu o membrană resorbabilă de colagen (BioGide® Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) sau cu o xenogrefă osoasă bovină (BioOss Collagen®, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) deoarece, după cunoștințele noastre, o astfel de investigație nu s-a realizat.

Material și metodă

Prezervarea alveolară s-a realizat folosind două tehnici, iar modalitățile de prezervare au fost alese aleator. Unul dintre situsurile experimentale (denumit situsul

1) a fost prima dată protejat cu membrana de colagen, care s-a adaptat intim peste alveolă și peste rebordul osos vestibular și oral, iar apoi s-a aplicat matricea 3D de colagen. Celălalt situs experimental, (denumit situsul 2) s-a prezervat prin umplerea alveolei cu BioOss Collagene® și apoi s-a acoperit cu Mucograft® (20x30).

Alveolele postextractionale s-au acoperit complet cu lambourile, au fost aplicate grijile post-operatorii, precizate în subcapitolul modelului experimental. La 1 lună după intervenție au fost prelevate eșantioanele.

Eșantioanele prelevate au fost supuse protocolului de preparare histologică. În acest studiu s-au analizat eșantioanele demineralizate, folosind acid nitric 10%. Au fost realizate secțiuni seriate de 5 μm grosime, în direcție vestibulo-linguală, de la periferia alveolelor spre centru și care s-au colorat cu hematoxină-eozină. Secțiunile au fost examinate la microscop și fotografiate cu camera conectată la microscop.

Rezultate

Din punct de vedere clinic, situsurile experimentale s-au vindecat normal, fără complicații. În situsul 1, osul compact care acoperea fața internă alveolară a fost înlocuit cu os trabecular, care conținea zone de os imatur. La nivelul suprafeței zonelor de os imatur a fost observată prezența osteoblastelor.

La nivelul suprafețelor externe vestibulare și orale ale crestei alveolare s-a observat prezența osteoclastelor în lacune de resorbție; aceste celule au fost mai abundente pe suprafața osului vestibular.

Treimea apicală internă a alveolei postextractionale (situsul 1) a fost ocupată de trabecule de os lamelar alternante cu insule de os imatur. În zona centrală și cea externă a situsului 1 s-au remarcat cantități mari de matrice provizorie, formată în mare majoritate de fibroblaste, fibre de colagen distribuite neuniform și vase de neoformare.

Pentru situsul 2 au fost observate aceleași caracteristici ale osului compact care limitează suprafața alveolară internă ca și pentru situsul 1. Nu au fost observate osteoclaste la nivelul suprafețelor externe ale osului vestibular și lingual al crestei alveolare.

Osul spongios care ocupa alveolele situsului 2 a fost format mai ales din trabecule bine dezvoltate de os lamelar alternând cu mici insule de os imatur; cantități mari de os spongios au ocupat compartimentul central și apical al fostelor alveole.

Concluzii

Ca și concluzii ale studiului prezent se poate spune că prezervarea alveolelor post-extractionale realizată cu matrice 3D de colagen plus xenogrefă osoasă a crescut sinteza osoasă în comparație cu tehnica de prezervare alveolară care a folosit dublu strat membranar (matrice 3D de colagen plus membrană de colagen).

Studiul 2. Evaluarea modificărilor osoase postextractionale tardive asociate prezervării alveolare cu o nouă matrice 3D de colagen: un studiu animal

Introducere

Acest studiu și-a propus să evalueze comparativ eficiența asocierii matricii 3D de colagen cu o membrană de colagen versus membrană de colagen singură în prezervarea alveolară, în termeni de modificări ale dimensiunilor osoase.

Material și metodă

Studiul a fost conceput ca și un experiment controlat randomizat. În ambele cadrane mandibulare, alveolele distale ale premolarilor doi și patru au servit ca situsuri experimentale. Într-un cadran, denumit MG+BG, ambele situsuri post-extractionale au fost tratate cu dublu strat membranar: o membrană de colagen care a reprezentat stratul intern (BioGide® Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) plus o matrice 3D de colagen (Mucograft®, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) care a acoperit membrana în exterior. În cadranul contra-lateral, denumit BG, ambele alveole post-extractionale au fost acoperite doar cu membrana de colagen.

În studiu au fost incluși 5 câini metiși, în bună stare de sănătate, în vârstă de 12-16 luni (media $14.75 \pm SD 1.46$) și având o greutate între 10-12 kg (medie $11 \pm SD 0.63$). Animalele au fost găzduite în condiții de laborator, la temperatură de 15-21°C și umiditate >30% și au beneficiat de apă și dietă de laborator *ad libitum*. Câinilor nu le-a fost administrată mâncare cu o noapte înaintea intervențiilor. Animalele au prezentat o dentiție sănătoasă parodontal. Nu a fost calculată mărimea inițială a eșantionului, dar a fost realizată analiza puterii post-hoc.

Eșantioanele au fost prelevate după o perioadă de vindecare de 5 luni. Metodologia de prelucrare histologică a urmărit realizarea secțiunilor nedemineralizate și îmbibarea cu rășină metacrilică (Technovit 9100 NEU, Heraeus Kulzer).

Pentru analiza histometrică a dimensiunilor verticale crestale au fost trasate următoarele limite: punctul B=limita crestei osoase vestibulare, L=limita crestei osoase linguale (orale), CC=verticala trasată prin mijlocul alveolei, aa=perpendiculara prin cel mai apical punct creștal pe verticala CC, BV=verticala prin punctul B pe linia aa (=înălțimea peretelui osos vestibular), LV''=verticala prin punctul L pe linia aa (=înălțimea peretelui osos oral). A fost calculată diferența dintre dimensiunea peretelui osos lingual și dimensiunea peretelui osos vestibular (ca măsură a resorbției osoase vestibulare). Diferențele obținute pentru secțiunile aferente celor două tehnici de prezervare au fost comparate statistic.

Rezultate

Vindecarea post-chirurgicală s-a desfășurat fără evenimente cu excepția unui subiect, care a fost eliminat din studiu, astfel încât datele finale disponibile au fost prelucrate doar pentru patru subiecți. Pentru fiecare alveolă prezervată s-au realizat câte 3 secțiuni ale zonei alveolare centrale și cele mai bune două secțiuni au fost analizate. În total au fost luate în considerare 32 secțiuni, care au fost analizate histologic și histometric, 16 secțiuni pentru grupul experimental MG+BG și 16 secțiuni pentru grupul experimental BG.

După o perioadă de vindecare de 5 luni, analiza histologică a arătat un aspect similar la vindecării tardive osoase pentru ambele grupuri experimentale, indicând o regenerare bună a alveolelor postextractionale. Multe secțiuni au relevat zone de dezintegrare ale osului cortical determinând o delimitare discontinuă a fostelor limite interne alveolare. În aceste zone, s-a putut observa un aspect de remodelare osoasă activă caracterizat de formarea trabeculelor osoase.

Nu s-au calculat diferențe semnificative referitoare la dimensiunile verticale vestibulare și orale între cele două grupuri de tratament. Din punct de vedere al dimensiunilor osoase orizontale nu au fost observate diferențe semnificative între cele două grupuri de studiu, adică, mai precis, modificările osoase alveolare post-extractionale s-au derulat la fel pentru ambele tipuri de prezervare.

Concluzii

Regenerarea osoasă ghidată- ca tehnică de prezervare alveolară- folosind un dublul strat membranar format din matrice 3D de colagen plus membrană de colagen a fost asociată cu aceleași modificări osoase ca și stratul membranar unic reprezentat de membrana de colagen.

Deoarece după 5 luni de vindecare limitele fostelor alveole nu au fost vizibile pe toate secțiunile histologice propunem ca studiile viitoare asupra vindecării tardive a diferitelor tehnici de prezervare alveolară să ia în considerare perioade mai scurte de vindecare.

Studiul 3. Studiu preclinic asupra remodelării tardive a țesuturilor moi după prezervarea alveolară folosind o nouă matrice 3D de colagen

Introducere

Acest studiu animal și-a propus să evalueze modificările dimensionale și caracteristicile țesutului moale crestal atunci când pentru prezervarea alveolară au

fost folosite două tehnici de regenerarea osoasă ghidată: asocierea matricii 3D de colagen plus o membrană de colagen față de folosirea membranei de colagen singure.

Material și metodă

Studiul a fost conceput ca și un experiment controlat randomizat. În ambele cadrane mandibulare, alveolele distale ale premolarilor doi și patru au servit ca situsuri experimentale. Într-un cadran, denumit MG+BG, ambele situsuri post-extracționale au fost tratate cu dublu strat membranar: o membrană de colagen porcine care a reprezentat stratul intern (BioGide® Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) plus o matrice 3D de colagen porcine (Mucograft®, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) care a acoperit membrana. În cadranul contra-lateral, denumit BG, ambele alveole post-extracționale au fost acoperite doar cu membrana de colagen. Cadranele au fost randomizat distribuite pentru tratament.

În studiu au fost incluși 5 câini metiși la care s-au aplicat cele două tehnici de preservare alveolară. Eșantioanele au fost prelevate după o perioadă de vindecare de 5 luni. Prelucrarea histologică a urmărit realizarea secțiunilor nedemineralizate și îmbibarea cu rășină metacrilică.

Rezultatul primar s-a considerat a fi aria suprafeței țesutului moale acoperitor al crestei alveolare. La nivelul secțiunilor histologice, aria țesutului moale crestal a fost definită de studiul prezent (Soft Tissue Area STA) ca fiind regiunea cuprinsă între două tangente trasate la nivelul pereților vestibular și lingual ai crestei alveolare, acoperiți de mucoasa crestală

Rezultate

Pentru fiecare alveolă preservată au fost făcute trei secțiuni, în centru alveolei și au fost alese și analizate cele mai bune două secțiuni. Un număr total de 32 de secțiuni au fost analizate histologic și histometric, câte 16 secțiuni pentru fiecare grup experimental.

Suprafața medie a țesutului moale acoperitor al crestei alveolare exprimat ca STA a fost de 12.33 mm² (SD 0.48) pentru grupul MG+BG și 10.63 mm² (SD 0.41) pentru grupul control BG. Analiza statistică a calculat că mucoasa acoperitoare a creștelor alveolare a fost semnificativ mai abundentă ($p < 0.05\%$) la nivelul zonelor post-extracționale prezervate cu BG+MG decât la nivelul zonele prezervate cu un singur strat membranar BG

După 5 luni de vindecare post-operatorie, examinarea histologică a țesutului moale acoperitor al creștelor alveolare a remarcat doar diferențe minore între cele două grupuri (două tipuri de preservare alveolară). Toate alveolele vindecate au fost acoperite de un epiteliu oral keratinizat. Pentru ambele grupuri s-a observat un țesut conjunctiv bine structurat, conținând o distribuție omogenă de fibre de colagen aranjate mai ales paralel cu suprafața osoasă. Totuși, la nivelul secțiunilor grupului BG+MG structura colagenică a fost mai pronunțată fiind asociată cu o cantitate ușor

mai mare de țesut conjunctiv în comparație cu grupul BG. A fost remarcată absența oricăror aspecte inflamatorii la nivelul țesutului moale cât și absența resturilor membranare.

Concluzii

Studiul nostru a observat că dublul strat membranar (matrice xenogenă 3D de colagen plus membrană xenogenă de colagen) folosit ca tehnică de preservare alveolară determină o mai bună preservare și vindecare a țesuturilor moi crestale în comparației cu tehnica de preservare care folosește o singură membrană.

CONCLUZII GENERALE

1. Folosind modelul canin perfectat a fost posibilă inițierea unui set de cercetări care au dorit să evalueze fenomenele de vindecare precoce și modificările tisulare asociate vindecării tardive a alveolelor postextractionale prezervate cu diferite biomateriale.

2. Prezervarea alveolară la nivelul modelului animal a urmărit în primul rând modificările osoase alveolare postextractionale asociate unei noi matrici 3D de colagen comercializate, iar compararea s-a făcut cu vindecarea naturală sau cu alte biomateriale consacrate.

3. Studiile pe modelul animal propus au evaluat și fenomenele de vindecare și modificările de la nivelul țesutului moale crestal, atunci când s-a folosit pentru preservarea alveolară matricea tridimensională de colagen sau alte biomateriale.

4. Studiul pe model animal asupra vindecării precoce a alveolelor postextractionale a observat o depunere osoasă crescută atunci când la preservarea alveolară a asociat matricii 3D de colagen o xenogrefă osoasă față de preservarea cu dublu strat membranar.

5. Modelul canin prezentat a studiat și vindecarea tardivă postextractională, sugerând că asocierea matricii 3D de colagen cu o membrană de colagen ar putea reprezenta o opțiune clinică interesantă de preservare a alveolelor post-extractionale mai ales atunci când se dorește o augmentare a dimensiunii țesutului moale acoperitor al crestei.

SUMMARY OF THE PhD THESIS

Comparative studies on the management of the extraction sockets

PhD Student **Cosmin Vasile Cioban**

PhD Advisor **Prof. dr. Radu Septimiu Câmpian**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CONTENTS

INTRODUCTION	13
STATE OF THE ART	
1. Alveolar resorption and the socket preservation	19
1.1. General aspects	19
1.2. Types of materials used for socket preservation	20
1.3. Healing dynamic of the extraction sockets	21
2. Ridge preservation in human studies. Histological aspects	25
2.1. Grafting materials. Histological aspects	25
2.2. Membranes. Histological aspects	28
2.3. Combinations. Histological aspects	29
2.4. Bioactive agents used for socket preservation	32
2.5. Factors which influence the healing of the extraction sockets	34
3. Surgical techniques for socket preservation	37
PERSONAL CONTRIBUTION	
1. Working hypothesis/Objectives	47
2. General methodology. Development of a preclinical model for the evaluation of the results on socket preservation techniques	49
3. Study 1 – A preclinical study on early healing after ridge preservation with a new collagen matrix	63
3.1. Introduction	63
3.2. Aims	63
3.3. Material and method	63
3.4. Results	64
3.5. Discussion	74
3.6. Conclusions	76
4. Study 2 – Evaluation of late ridge alterations following tooth extraction after ridge preservation with a new 3D collagen matrix: an animal study	77
4.1. Introduction	77
4.2. Aims	77
4.3. Material and method	78
4.4. Results	82
4.5. Discussion	84
4.6. Conclusions	

5. Study 3 – A preclinical study on late healing remodeling of the soft tissues after ridge preservation with a new 3D collagen matrix	87
5.1. Introduction	87
5.2. Aims	87
5.3. Material și method	89
5.4. Results	89
5.5. Discussion	92
5.6. Conclusions	95
6. General conclusions	97
7. Originality and innovative contributions of the thesis	99
REFERENCES	101

Key words: alveolar bone, collagen membrane, socket preservation, wound healing, animal

INTRODUCTION

Post-extraction alveolar ridge resorption is an inevitable process occurring as the healing develops after tooth removal and accounts for horizontal and vertical dimensional ridge alterations.

The success of ridge preservation techniques in reducing bone resorption is well documented, but no clear guidelines have been provided regarding the type of the biomaterial or technique to be used.

The loss in height and width of the alveolar process results in a narrowing and shortening of the residual ridge with the relocation of the ridge to a more lingual position due to a more pronounced resorption of the buccal compartment.

The ridge alterations frequently complicate implant placement and impair the aesthetic outcome of implant or conventional prosthetic rehabilitation. Recently, a new collagen matrix has been designed for soft tissue regeneration and it has been evaluated in the treatment of recession defects and for keratinized tissue augmentation.

Good outcomes in terms of root coverage and increase in the width and thickness of the keratinized tissue have been reported. In spite of promising results of this new collagen matrix for recession treatment and keratinized tissue augmentation, as far as we know, there is no information on its possible effect on hard and soft tissues when used in ridge preservation procedures.

This experimental animal study aimed at comparing the effectiveness of a combination of the 3D collagen matrix plus a collagen membrane vs. the collagen membrane alone used for ridge preservation, in terms of osseous dimensional modifications and characteristics of overlaying soft tissue.

PERSONAL CONTRIBUTION

Working hypothesis

The PhD thesis aims to develop some preclinical research, with the objective to evaluate the healing of the sockets, following tooth extraction, after its preservation with a new 3D collagen matrix, used either alone or combined with other biomaterials, on a canine model.

Research objectives

1. Development of an animal model in order to be used for the study of the healing, of the extraction sockets
2. Observation of the healing pattern of the extraction sockets preserved with the new 3D collagen matrix
3. Comparison of the healing pattern of the early healing of the extraction sockets preserved with the new collagen matrix combined with other biomaterials
4. Observation of the quality and quantity of the alveolar bone late alterations of the extraction sockets preserved with the new collagen matrix combined with other biomaterials
5. Observation of the alterations of the soft tissues covering the extraction sockets preserved with the new collagen matrix combined with other biomaterials

Study 1 – A preclinical study on early healing after ridge preservation with a new collagen matrix

Introduction

The aim of the present animal study was to investigate the early healing processes developing in the post- extraction sockets preserved with Mucograft® Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) or with a bovine associated with a resorbable membrane (BioGide®, Geistlich xenograft (Bio-Oss Collagen®, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) as, to our knowledge, such investigations have not been reported so far

Material and method

One experimental site (named experimental site 1) was protected first with BioGide® (30×40 mm), which intimately covered the post-extraction alveolus and then with Mucograft® (20×30mm) . The other experimental site (named experimental site 2) was filled with Bio-Oss Collagen® and covered with Mucograft® (20×30 mm). The preserved post-extraction sites were completely covered with the mobilized flaps. After one month of healing, the animal was euthanatized. The samples underwent routine histological procedures and they were decalcified in 10% nitric acid.

Serial sections, 5 µm thick, in bucco-lingual direction were sampled from the central area of the sockets and were stained with Hematoxylin and Eosin. The sections were examined by light microscopy and were photographed with a camera connected to the microscope.

Results

In the experimental site 1, the bundle bone lining the inner surface of the alveolus was replaced with trabecular bone containing areas of woven bone. A continuous layer of osteoblasts could be observed on the surface of woven bone areas. The outer portions of both buccal and lingual bone walls were lined with osteoclasts encased within resorptive lacunae and being more abundant onto the surface of the buccal wall; several osteoblasts were also found on both outer surfaces of the alveolus. The apical internal compartment of the socket was occupied by trabeculae of lamellar bone alternating with islands of woven bone spicules. Scattered osteoclasts could be observed on the surface of the trabeculae and were indicative for the remodeling activity of the bone.

For experimental site 2, the same characteristics of the bundle bone lining the inner surface of the alveolus as for the experimental site 1 were observed. No osteoclasts could be observed on the outer portions of both buccal and lingual bone walls. The trabecular bone occupying the socket was mainly comprised of the well-developed trabeculae of lamellar bone alternating with small islands of woven bone; large amounts of trabecular bone occupied the apical and central compartments of the socket.

Conclusions

The combination Mucograft® plus Bio-Oss Collagen® was associated with an increased osseous deposition in the alveolus in comparison with the use of a double membrane layer.

Study 2 – Evaluation of late ridge alterations following tooth extraction after ridge preservation with a new 3D collagen matrix: an animal study

Introduction

This experimental animal study aimed at comparing the effectiveness of a combination of the 3D collagen matrix plus a collagen membrane vs. the collagen membrane alone used for ridge preservation, in terms of osseous dimensional modifications

Material and method

This study was designed as a randomized controlled experiment. In both quadrants of the mandible, the distal sockets of the second and fourth premolars served as experimental sites. In one quadrant, designated Mucograft (MG) + Bio-Gide (BG), both extraction sites received a double-layered coverage: a collagen membrane (the inner layer) (Bio-Gide® Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) plus a 3D collagen matrix (Mucograft®, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) covering the collagen membrane. In the contra-lateral quadrant (designated BG), both extraction sites were covered only with the collagen membrane.

Five mongrel dogs in good health, about 12–16 months old (mean $14.75 \pm SD 1.46$) and weighing between 10 and 12 kg (mean $11 \pm SD 0.63$), were used. Animals were housed under laboratory conditions, at a room temperature of 15–21 °C and humidity >30 %, and were provided access to water and laboratory diet ad libitum. Food was withheld the night before intervention. The animals had an intact dentition with healthy periodontium. No sample size was calculated. Instead, the post hoc power analysis was performed.

After 5 months of healing, the animals were euthanized. The specimens were dehydrated using ascending grades of alcohol and xylene, infiltrated, and embedded in methylmethacrylate (MMA, Technovit 9100 NEU, Heraeus Kulzer, Wehrheim, Germany) for non-decalcified sectioning.

The following landmarks were considered: BC=the crest of the buccal bone wall of the ridge, LC=the crest of the lingual bone wall of the ridge, V'=the most apical portion of the basal body of the mandible, VV'=the vertical line drawn in the centre of the ridge through the most apical point of the osseous basal body (V') which separates the buccal and lingual compartments of the section V'T=the line perpendicular to VV' drawn through the point V'.

The total buccal bone height (BBH) and total lingual bone height (LBH) were measured from the top of the buccal (BC) and oral (LC) alveolar wall to the most apical point of the jaw by drawing vertical lines perpendicularly to V'T through the points BC and LC. The difference between the buccal and lingual bone heights (LBH–BBH) was calculated.

Results

After a healing period of 5 months, the histological analysis revealed a similar picture of bone formation in both groups, indicating a well-regenerated extraction socket. Many specimens showed areas of disintegration of the cortical bone leading to a discontinuous lining of the former socket walls. In these areas, an active bone remodelling could be observed which was characterized by the formation of the trabecular bone.

No significant differences regarding the buccal and lingual dimensions were calculated between the two treatment groups..

Conclusions

For both guided bone regeneration techniques used by the present study, the results showed no differences in the relative vertical bone dimensions expressed as a difference between the lingual and buccal bone heights. Further researches are needed in order to provide information on the effect of these techniques on the dimensional modifications of the buccal bone

Study 3 – A preclinical study on late healing remodeling of the soft tissues after ridge preservation with a new 3D collagen matrix

Introduction

This experimental animal study aimed at comparing the effectiveness of a combination of the 3D collagen matrix plus a collagen membrane vs. the collagen membrane alone used for ridge preservation, in terms of osseous dimensional modifications and characteristics of overlaying soft tissue.

Material and method

This study was designed as a randomized controlled experiment. In both quadrants of the mandible, the distal sockets of the second and fourth premolars served as experimental sites. In one quadrant, designated Mucograft (MG) + Bio-Gide (BG), both extraction sites received a double-layered coverage: a collagen membrane (the inner layer) (Bio-Gide® Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) plus a 3D collagen matrix (Mucograft®, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) covering the collagen membrane. In the contra-lateral quadrant (designated BG), both extraction sites were covered only with the collagen membrane. The quadrants were randomly assigned to one of the treatment groups using a computer-generated randomization table.

Five mongrel dogs were used. The animals had an intact dentition with healthy periodontium. The surface areas of soft tissues covering the alveolar crests were

defined on the sections. The soft tissue area (STA) was defined as the region between two tangents lining the buccal and lingual walls of the alveolar ridge

Results

For each preserved socket, at least three central sections were sampled from the centre of the alveolus and the best two of them in terms of quality were analysed. A total number of 32 sections were finally considered for the histological and histometric analyses, 16 for the MG+BG experimental group and 16 for the BG group..

The mean amount surface of soft tissue covering the alveolar crests expressed as the soft tissue area (STA) was 12.33 mm² (SD 0.48) for the MG+BG group and 10.63 mm² (SD 0.41) for the BG group. The mucosa covering the alveolar ridges is statistically significantly more abundant in post-extraction sockets preserved with the double-layered approach (MG+BG) than in the one-layered approach (BG).

After 5 months histological examination of the soft tissue covering the alveolar crest showed only slight differences between the groups. The healed extraction sockets were covered with an oral mucosa lined with a keratinized oral epithelium. Both groups revealed a well-structured connective tissue homogeneously permeated by collagen fibres running mainly parallel to the bone surface. However, the BG+MG specimens exhibited a more pronounced collagen structure leading to a slightly increased amount of connective tissue.,

Conclusions

In conclusion, the double-layered ridge preservation approach using the collagen matrix associated with the collagen membrane may result in a better preservation of the mucosal seal than the single-layered membrane approach.

GENERAL CONCLUSIONS

1. By using the canine model it was possible to do some research meant to evaluate the early healing and the tissue alterations associated with the socket preservation by using different biomaterials.

2. The socket preservation aimed to evaluate the alveolar modifications associated with the use of a new 3D collagen matrix the comparison being done either with the natural healing or with other biomaterials

3. The studies evaluated the healing and the alterations at the soft tissue level, when the preservation was done by using the collagen matrix or other biomaterials

4. The study has noticed an increased in bony tissue when the preservation is done with the combination matrix and xenograft compared with a double layer membrane.

5. In the canine model the preservation by using the double-layered ridge preservation approach using the collagen matrix associated with the collagen membrane may result in a better preservation of the mucosal seal than the single-layered membrane approach

