

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II**



**DOTTORATO DI RICERCA IN**  
**MEDICINA CLINICA E SPERIMENTALE**  
*CURRICULUM IN SCIENZE ODONTOSTOMATOLOGICHE*

**XXXII Ciclo**  
*(Anni 2017-2020)*

**Coordinatore: Prof. Francesco Beguinot**

**TESI DI DOTTORATO**

**TITOLO**

**PRESERVAZIONE DELLA CRESTA ALVEOLARE CON MINERALE OSSEO BOVINO DEPROTEINIZZATO E COPERTO CON MATRICE DI COLLAGENE. VALUTAZIONE ISTOLOGICA DELLA GUARIGIONE DEL TESSUTI MOLLI E DURI**

TUTOR/RELATORE

**Chiar.mo**  
**Prof. Luca Ramaglia**

CANDIDATO

**Dott. Francesco Maria Cassandro**

## **INDICE**

- 1) Introduzione**
- 2) Materiali e metodi**
  - a) Protocollo chirurgico**
  - b) Inserimento dell'impianto**
  - c) Analisi istologica**
  - d) Analisi statistica**
- 3) Risultati**
  - a) Risultati istologici**
  - b) Risultati clinici**
- 4) Discussione**
- 5) Conclusioni**
- 6) Bibliografia**

## **1. INTRODUZIONE**

Il processo alveolare delle ossa mascellari si sviluppa insieme al dente durante la fase di eruzione. Il suo volume e la sua forma sono determinati dalle dimensioni e dalla morfologia delle radici dentarie, dalla posizione del dente e dal suo asse di eruzione [1]. Il processo alveolare delle ossa mascellari si sviluppa insieme al dente durante la fase di eruzione. Il suo

volume e la sua forma sono determinati dalle dimensioni e dalla morfologia delle radici dentarie, dalla posizione del dente e dal suo asse di eruzione [1].

La perdita di un elemento dentario comporta l'inizio di una serie di processi biologici finalizzati al raggiungimento della guarigione della ferita mucosa e ossea [2, 3].

La guarigione dei tessuti molli avviene in 6-8 settimane mentre il riempimento dell'alveolo con tessuto mineralizzato radiograficamente visibile avviene in 3-6 mesi, sebbene la riorganizzazione e la completa mineralizzazione di questo tessuto può durare oltre 1 anno in funzione delle diverse morfologie e dimensioni degli alveoli (monoradicolti o pluriradicolti) [4].

Purtroppo nella quasi totalità dei pazienti la guarigione dell'alveolo post-estrattivo si associa ad una modifica morfologica e volumetrica in difetto della cresta ossea, sia in senso orizzontale che in senso verticale [5] che, se non adeguatamente trattata e corretta, non permetterà una riabilitazione protesica atta a ripristinare adeguatamente la situazione anatomica preesistente.

Lo studio delle variazioni dimensionali di creste totalmente edentule ha permesso di dimostrare che il rimodellamento è marcato sia in senso orizzontale che verticale [6] e che il riassorbimento osseo ha una direzione centripeta nel mascellare e centrifuga nella mandibola [7]. Lo studio di edentule singole intercalate tra elementi contigui perfettamente sani ha mostrato, inoltre, che il riassorbimento crestale risulta più marcato in senso orizzontale e meno in senso verticale [8]. Studi precedenti hanno dimostrato che una media di 3,7 mm dell'ampiezza della cresta orizzontale si perde entro un periodo di 4-6 mesi dopo un'estrazione dentaria [9, 10]. L'altezza della cresta, d'altra parte, è colpita in misura minore e si perdono in media solo 1,6 mm [11, 12]. Tan e coll., in una revisione sistematica della letteratura, hanno rilevato un riassorbimento osseo orizzontale (29 – 63%) tre volte maggiore di quello verticale (11 – 22%) a 6 mesi dall'estrazione rispetto al volume alveolare “ab initio” [13]. In sede premolare e molare, ad un anno dall'estrazione, l'entità della riduzione del

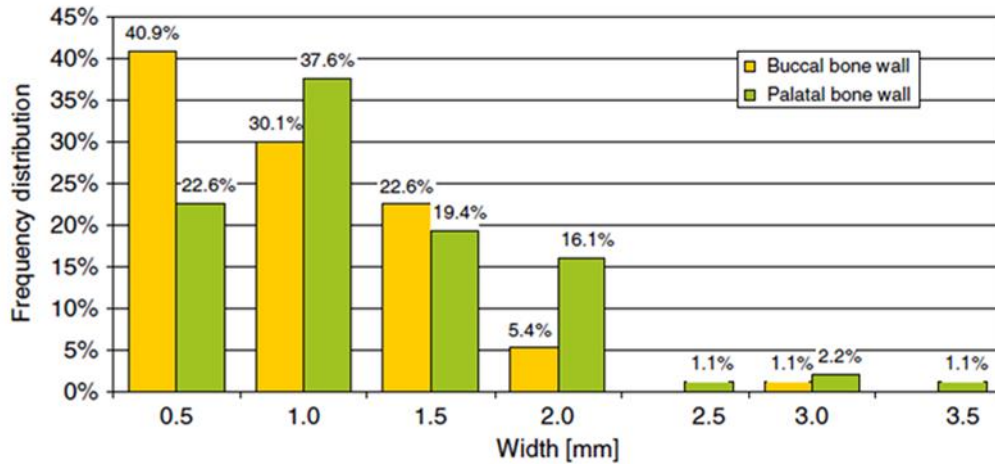
volume della cresta ossea risulta essere di circa il 50%. La maggior parte di essa e i due terzi del riassorbimento orizzontale avvengono nei primi 3 mesi, inoltre la percentuale di contrazione del volume osseo risulta maggiore nella regione molare rispetto a quella premolare ed è maggiore alla mandibola rispetto al mascellare superiore [14].

Successivamente, uno studio radiografico 3D a 8 settimane su incisivi e canini mascellari nell'uomo ha identificato solo la porzione centrale vestibolare dell'alveolo come area a forte rischio di rimodellamento osseo post-estrattivo mentre, invece, valori minimi di riassorbimento sono stati riportati per le aree prossimali [15]. L'ulteriore analisi dei dati relativi esclusivamente alle porzioni centrali vestibolari ha permesso di riconoscere in 1 mm di spessore della parete il valore critico predittivo dell'entità del rimodellamento: il valore mediano di riassorbimento verticale delle aree a rischio con spessore < 1 mm. risulta essere 7 volte maggiore rispetto all'analogo valore mediano in caso di spessore > 1 mm. (7.5 mm. versus 1.1 mm.) [15].

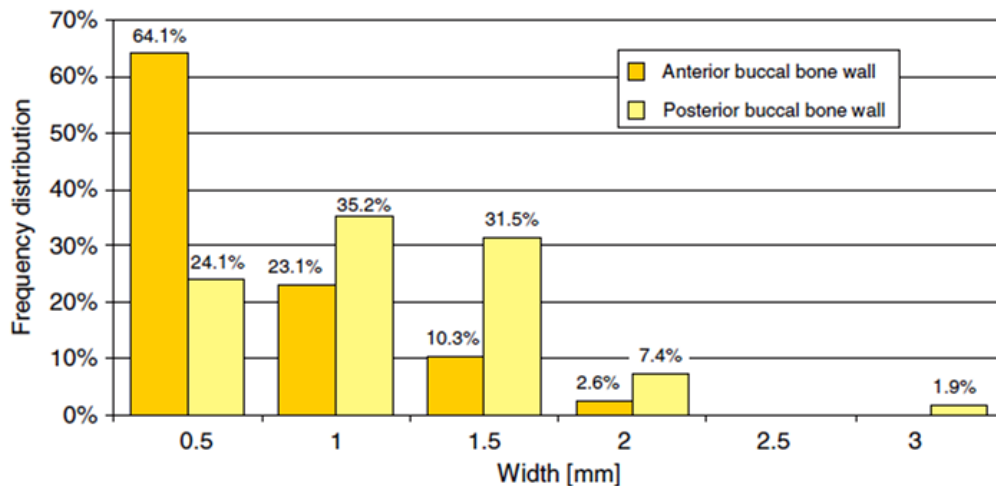
I valori più elevati di riduzione del volume alveolare si presentano con maggiore frequenza in pazienti con fenotipo dento-parodontale "sottile e festonato" tra le cui caratteristiche anatomiche, geneticamente determinate, vi è la presenza di una parete ossea vestibolare alveolare estremamente sottile che, in alcuni pazienti, può risultare addirittura assente con la conseguente presenza di fenestrazioni e/o deiscenze ossee [16]. Questa parete, generalmente spessa meno di un millimetro, è composta esclusivamente o quasi da "bundle bone" [4, 17] che, riassorbendosi in seguito all'estrazione, fa sì che il rimodellamento sia più marcato in questi pazienti, nonché maggiore a livello vestibolare rispetto al palatale (Tab. 1.1 e 1.2).

Il "bundle bone" rappresenta una specifica e sottilissima struttura mineralizzata che riveste l'interno degli alveoli dentari ove si inseriscono con continuità anatomica i legamenti alveolo-dentari provenienti dal cemento radicolare. Esso ha uno spessore molto esiguo (0,2

- 0,4 mm) [1] e si forma, si sviluppa e persiste in relazione alla presenza del dente mentre si riassorbirà e scomparirà in seguito alla perdita dell'elemento dentario [3].



Tab. 1.1 Distribuzione dello spessore osseo vestibolare mascellare nella regione da 1.5 a 2.5 (Huynh-Ba G. e coll. 2010)



Tab. 1.2 Confronto della distribuzione degli spessori ossei vestibolari mascellari tra le regioni comprendenti gli incisivi e i canini vs. quelle dei premolari (Huynh-Ba G. e coll. 2010)

Fattori associati con il processo di riassorbimento osseo post-estrattivo ed in grado di influenzarlo sono il tipo e la gravità della patologia che comporta l'estrazione, le manovre chirurgiche e l'entità del trauma correlate all'estrazione, il tempo trascorso dal momento dell'estrazione, un'eventuale riabilitazione protesica ad appoggio mucoso e, infine, una

molteplicità di fattori individuali predisponenti locali (ad esempio la notevole vestibolarizzazione dell'elemento dentario) o sistemici (ad esempio l'assunzione cronica di cortisonici nel trattamento delle patologie autoimmuni) che possono essere più genericamente identificati come variabilità individuali (spesso geneticamente determinate) che predispongono ad un maggior riassorbimento osseo post-estrattivo [18].

Un ulteriore fattore ipotizzato nel determinismo del riassorbimento osseo alveolare è rappresentato dal danno vascolare alle pareti ossee alveolari provocato dall'estrazione o dall'eventuale sollevamento di un lembo a tutto spessore, che risulterebbe in una morte degli osteociti con successivo riassorbimento osseo nella porzione più coronale dell'alveolo dove le pareti risultano più sottili e, per questo, in maggiore sofferenza. Tuttavia, in riferimento all'influenza del sollevamento di un lembo, nel 2009 Araujo e Lindhe [19] hanno dimostrato non esserci differenza tra approcci a lembo e flapless.

Tra gli eventuali fattori influenzanti il rimodellamento osseo, il posizionamento di un impianto post-estrattivo immediato come tecnica atta a ridurre l'entità del riassorbimento è stato dimostrato non avere efficacia a tale scopo [5, 20]. Ciò avviene indipendentemente dalla forma geometrica e dal tipo d'impianto utilizzato [21], così come dalla tecnica chirurgica applicata (sommersa o non sommersa), [22] in quanto le alterazioni morfologiche e dimensionali che si realizzano sono il risultato della perdita del dente e della sua funzione.

Sono state proposte un certo numero di tecniche per contrastare la riduzione della cresta in seguito ad estrazione, tra cui l'uso d'innesti ossei e di vari sostituti ossei inseriti nell'alveolo post-estrattivo, spesso in combinazione con membrane barriera per garantire la preservazione di un'ampiezza adeguata della cresta al fine di consentire l'inserimento implantare [11, 23, 24]. Tuttavia, nessun protocollo di preservazione della cresta alveolare si è dimostrato superiore ad altri [25].

Negli ultimi due decenni sono stati condotti molteplici studi che hanno valutato l'efficacia di diversi approcci di riempimento degli alveoli. In questi studi sono stati presi in esame molti biomateriali, tra cui osso autologo, sostituti ossei (alloinnesti, xenoinnesti e innesti alloplastici), prodotti derivati da sangue autologo e agenti bioattivi [26]. Molti rapporti indicano che l'osso autogeno rappresenta ancora il gold standard [27]; tuttavia, la morbilità legata alla regione del donatore è un grande svantaggio di questo biomateriale. In alternativa all'osso autogeno, sono stati riportati risultati incoraggianti con l'uso di xenoinnesti ossei per la preservazione della cresta alveolare, che si sono dimostrati utili come impalcatura nonché per promuovere la crescita ossea, principalmente attraverso la sua attività osteoconduttiva [28]. Tra questi, l'osso bovino deproteinizzato (DBBM) è stato usato con successo in diversi studi per preservare le dimensioni della cresta dopo estrazione dentaria [29-31].

Un lavoro fondamentale che illustra le finalità e i risultati di questa tecnica di "alveolar ridge preservation" (ARP) fu pubblicato da Araujo nel 2008 [32]: in esso si riportavano dati acquisiti su cani ove si erano documentati i processi biologici e le variazioni dimensionali che avvenivano a livello dell'alveolo post-estrattivo in seguito ad estrazioni guarite senza alcuna interferenza con il fisiologico meccanismo di guarigione (controllo) rispetto a quelle in cui si era posizionato all'interno dell'alveolo un biomateriale mineralizzato a scarso riassorbimento (DBBM - Bio-oss Collagen® - Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) (test). I risultati, successivamente confermati anche sull'uomo da altri Autori, dimostravano l'efficacia della procedura nel ridurre al minimo la contrazione volumetrica ossea post-estrattiva [8, 33, 34].

Diversamente dall'utilizzo negli animali, negli uomini l'innesto di tale biomateriale fu accompagnato dall'utilizzo di un innesto libero di fibro-mucosa palatina, epiteli-connettivale, con lo scopo di acquisire un'azione di contenimento del materiale all'interno



dell'alveolo post-estrattivo e d'incrementare la qualità e la quantità dei tessuti mucosi cheratinizzati a livello della zona edentula [35, 36].

Tuttavia, questa ulteriore procedura comportava per il clinico una maggiore padronanza tecnica oltre ad un tempo operatorio più lungo e obbligava il paziente ad un prelievo da un secondo sito chirurgico con il rischio di un maggior dolore post-operatorio, un maggior discomfort estetico-funzionale, un maggior rischio di complicanze emorragiche dal sito di prelievo e il rischio di necrosi dell'innesto fibro-mucoso. Nel passato tutte queste problematiche hanno reso le tecniche di "alveolar ridge preservation" seppur efficaci, scarsamente efficienti, per cui sono state poco attuate sull'uomo.

Al fine di evitare questi inconvenienti alcuni Autori hanno utilizzato a scopo contenitivo una membrana riassorbibile in collagene nativo che, caratterizzata da una struttura abbastanza densa, da una facile modellazione e da un semplice adattamento alle condizioni anatomiche circostanti, era già utilizzata per procedure di GBR e/o GTR [8, 33, 34]. Queste, seppur esposte volontariamente e "ab initio", non sono mai state associate a fenomeni infettivi tali da inficiare i risultati preventivati.

Recentemente, però, la messa in commercio di matrici in collagene di origine suina, ideate esclusivamente per la guarigione dei tessuti molli, con una struttura a doppio strato denso/poroso, non cross-linked e dotate di notevole idrofilia (Mucograft® Seal - Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland), ha permesso di migliorare la qualità della guarigione dei tessuti molli negli stadi iniziali e di accelerarne il processo di guarigione senza provocare alcun effetto negativo sul risultato clinico ed estetico finale [37-40]. Con i suoi due strati funzionali, CM ha mostrato di favorire la stabilizzazione di un coagulo sanguigno, promuove la crescita cellulare e la vascolarizzazione precoce con uno strato poroso, e accelera la guarigione del tessuto molle con gli altri strati [41]. Risultati promettenti sono stati ottenuti nella rigenerazione della gengiva cheratinizzata e come innesto per la sigillatura dell'alveolo nelle procedure di preservazione della cresta [42].

Purtroppo nessuno specifico protocollo di ARP ha dimostrato una sua superiorità, inoltre non c'è evidenza su quale sia il timing ottimale per il posizionamento implantare a seguito di ARP [43].

Alla luce di questi risultati, l'obiettivo della presente serie di casi era valutare ulteriormente l'influenza di un protocollo chirurgico con l'uso di DBBM e CM sui risultati della guarigione istologica di un alveolo post-estrattivo nella zona estetica anteriore prima di inserire un impianto dentale.

## **2. MATERIALI E METODI**

Un totale 16 pazienti (7 uomini e 9 donne; età compresa fra 37 e 62 anni, età media: 48,2 anni) che necessitavano dell'estrazione di un elemento dentario monoradicolato nella regione anteriore sono stati reclutati tra luglio 2017 e ottobre 2018. Ogni paziente è stato informato dei possibili rischi dello studio e ha sottoscritto un documento di consenso informato. Il protocollo dello studio (#24/14 e #35/7) è stato approvato dal comitato etico istituzionale dell'Università di Messina.

La selezione dei pazienti ha previsto l'osservazione dei seguenti criteri di inclusione: (1) età > 18 anni, (2) assenza di malattie sistemiche che costituissero una controindicazione al trattamento di chirurgia orale, (3) assenza di malattie parodontali in fase di attività con buon controllo di placca, e (4) presenza di un già programmato restauro implanto-supportato nel piano di trattamento. Sono stati, invece, esclusi pazienti con: (1) una qualsiasi condizione sistemica che potesse avere un'influenza sui risultati dello studio, (2) gravidanza, (3) presenza o storia di terapia radiante o immunosoppressiva, (4) assunzione di antinfiammatori o immunosoppressori, (5) storia di abuso di alcool, (6) fumatore, o (7) mancanza di dentatura antagonista in occlusione nell'area in cui si dovevano eseguire l'estrazione e il successivo

inserimento implantare. La definitiva partecipazione allo studio è avvenuta solo in presenza di almeno il 50% della teca ossea vestibolare verificata a seguito dell'estrazione. Dopo essere stati ammessi allo studio, i pazienti sono stati sottoposti a detartrasi sopragengivale e dell'intera bocca con ultrasuoni e/o strumenti manuali e gli sono state fornite istruzioni supplementari di igiene orale.

### **Protocollo chirurgico**

Prima dell'intervento sono stati realizzati una radiografia periapicale standardizzata del sito di estrazione, modelli di studio e fotografie cliniche.

Dopo anestesia locale mediante mepivacaina con adrenalina 1:100.000, è stato scollato un lembo mucoperiosteale senza incisioni di rilascio e che si estendesse in senso mesio distale ai due denti adiacenti e non più di 2 mm oltre la cresta ossea in senso corono apicale.

Le procedure estrattive sono state eseguite con grande delicatezza e attenzione alla preservazione della teca ossea vestibolare e al rispetto dei tessuti molli circostanti utilizzando una tecnica mini-invasiva (Figg. 1 e 2).

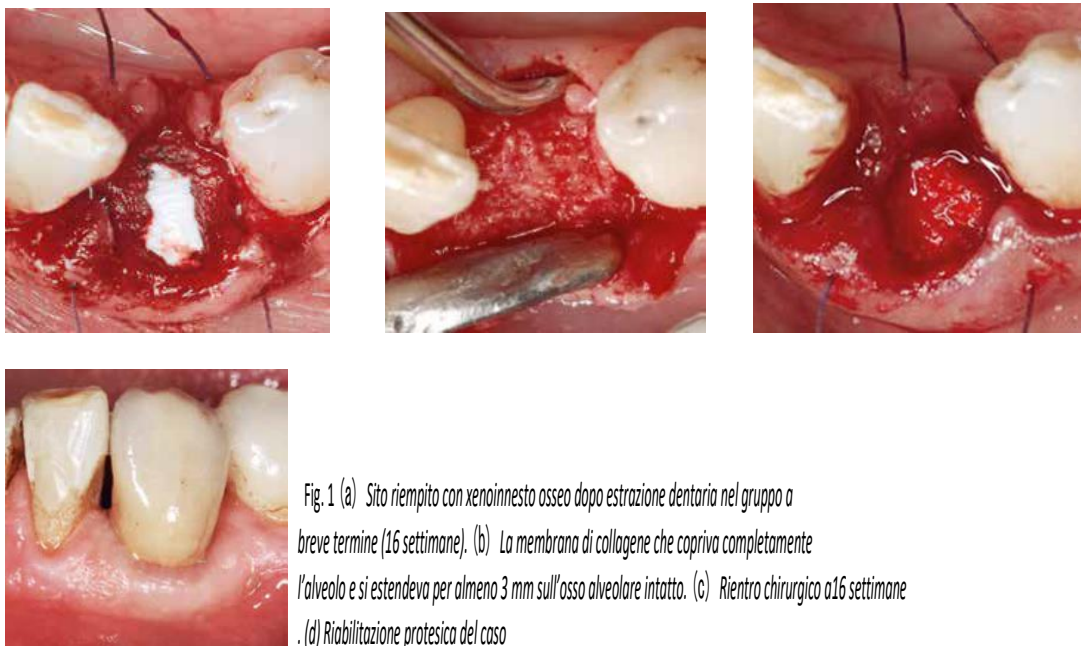


Fig. 1 (a) Sito riempito con xenoinnesto osseo dopo estrazione dentaria nel gruppo a breve termine (16 settimane). (b) La membrana di collagene che copriva completamente l'alveolo e si estendeva per almeno 3 mm sull'osso alveolare intatto. (c) Rientro chirurgico a 16 settimane. (d) Riabilitazione protesica del caso

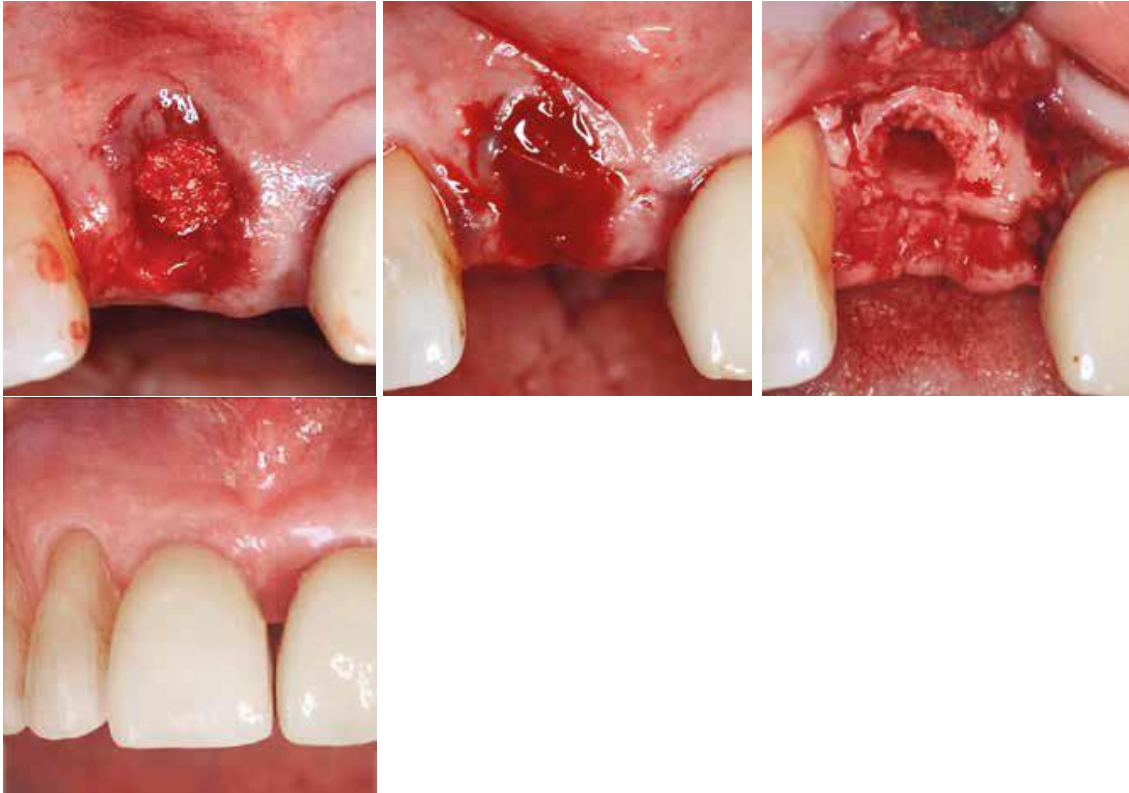


Fig. 2 (a) Sito riempito con lo xenoinnesto osseo dopo estrazione dentaria nel gruppo a lungo termine (32 settimane). (b) La membrana in collagene che copriva completamente l'alveolo e si estendeva per almeno 3 mm sull'osso alveolare intatto. (c) Rientro chirurgico a 32 settimane. (d) Riabilitazione protesica del caso.

L'alveolo post-estrattivo è stato, quindi, raschiato a fondo con un cucchiaio alveolare e irrigato con soluzione fisiologica sterile. Solo a questo punto, mediante l'utilizzo di sonde, è stata verificata la presenza di almeno il 50% della teca ossea vestibolare e, successivamente, sono stati registrati alcuni parametri. È stata misurata la distanza verticale dal centro della cresta alveolare (AC), sia a livello vestibolare che palatale/linguale, ad una sonda parodontale di riferimento che collegava la giunzione amelo-cementizia (CEJ) dei denti adiacenti. L'ampiezza alveolare in senso vestibolo-palatale/linguale è stata misurata al centro delle pareti vestibolare e palatale/linguale, 1 mm apicalmente alla cresta, utilizzando un calibro manuale.

All'interno degli alveoli post-estrattivi è stato innestato DBBM con 10% di collagene (Bio-Oss Collagen, Geistlich) con lo scopo di ridurre la contrazione post-estrattiva. Inoltre, una CM riassorbibile xenogenica (Mucograft, Geistlich) è stata adattata e suturata al tessuto molle marginale allo scopo di coprire lo xenoinnesto e promuovere la guarigione per prima intenzione. La realizzazione della sutura con funzione di chiusura senza tensione del lembo e stabilizzazione della CM ha previsto l'utilizzo di una sutura riassorbibile vestibolo-linguale/palatale (4/0 Vicryl Plus, Ethicon).

Al termine dell'intervento, tutti i pazienti hanno ricevuto ulteriori istruzioni di igiene orale e gli è stata prescritta una terapia antimicrobica che consisteva in sciacqui con un collutorio a base di clorexidina 0,12% due volte al giorno per 14 giorni e assunzione per OS di compresse di amoxicillina da 1 g due volte al giorno per 3 giorni dopo l'intervento. Il dolore e l'edema postoperatori sono stati tenuti sotto controllo con una terapia a base di ibuprofene 400 mg per OS ogni 12 ore per i primi 2 giorni.

### **Inserimento dell'impianto**

Una volta completata la procedura chirurgica, i pazienti sono stati randomizzati in due gruppi: in un gruppo si sarebbe provveduti a realizzare una valutazione a breve termine (16 settimane di guarigione), nell'altro a lungo termine (32 settimane di guarigione). Il mascheramento dell'assegnazione è stato eseguito per mezzo di buste sigillate numerate in serie, e i dettagli della sequenza erano anonimi per i clinici che partecipavano allo studio. Prima della valutazione, uno degli autori non coinvolto nella registrazione e nell'elaborazione dei dati (F.C.) si occupava dell'assegnazione delle buste sigillate marcate con le iniziali e la data di nascita del paziente e contenente l'assegnazione al gruppo di valutazione a breve o a lungo termine. Successivamente un altro clinico (G.I.) apriva la busta col numero assegnato per una delle due valutazioni. Al momento temporale randomizzato appropriato, il paziente ritornava per la chirurgia implantare. Dopo lo scollamento di un

lembo, si otteneva un campione bioptico mediante una fresa carotatrice con diametro esterno di 3,5 mm e diametro interno di 2,5 mm. Dopo l'inserimento di un impianto di almeno 4,0 mm di diametro sono state ripetute le misurazioni dimensionali della cresta ossea prese al tempo 0. Il lembo è stato riposizionato in assenza di tensione per ottenere la chiusura per prima intenzione del tessuto molle. I pazienti dovevano seguire lo stesso regime farmacologico prescritto dopo la chirurgia di estrazione. Il provvisorio utilizzato dopo la prima fase chirurgica veniva nuovamente applicato. I restauri protesici definitivi venivano iniziati dopo 3 mesi dall'inserimento implantare in entrambi i gruppi. I pazienti erano richiamati per visite di controllo ogni 6 mesi. Il successo implantare si valutava agli esami di follow-up per l'integrazione del tessuto registrando eventuali complicanze biologiche. I livelli dell'osso marginale perimplantare si valutavano sulle radiografie orali 1 anno dopo il restauro protesico definitivo.

### **Analisi istologica**

I campioni di biopsia ossea sono stati inseriti in portacampioni riempiti di soluzione di formaldeide al 4% in 0,1 M di soluzione fisiologica tamponata con fosfato (PBS), pH 7,3, e conservati a 4°C. Il materiale della biopsia ossea è stato fissato in soluzione di formaldeide tamponata al 10%. Dopo la disidratazione, il materiale della biopsia è stato inglobato in paraffina e sono state preparate sezioni da 6 mm. Le sezioni sono state colorate con colorante ematossilina-eosina di routine. Per l'analisi istomorfometrica da ogni campione si sono ottenute le due sezioni più centrali. Per l'analisi qualitativa e morfologica del processo di modellamento, le preparazioni colorate sono state esaminate al microscopio ottico (Zeiss Axioplan) a un ingrandimento minimo di 20X ed è stata valutata l'intera sezione. Sono state acquisite dieci immagini digitali di ogni sezione che sono state usate per tracciare le aree identificate come osso vitale, particelle di biomateriale e tessuto connettivo.(Fig 3 e 4)

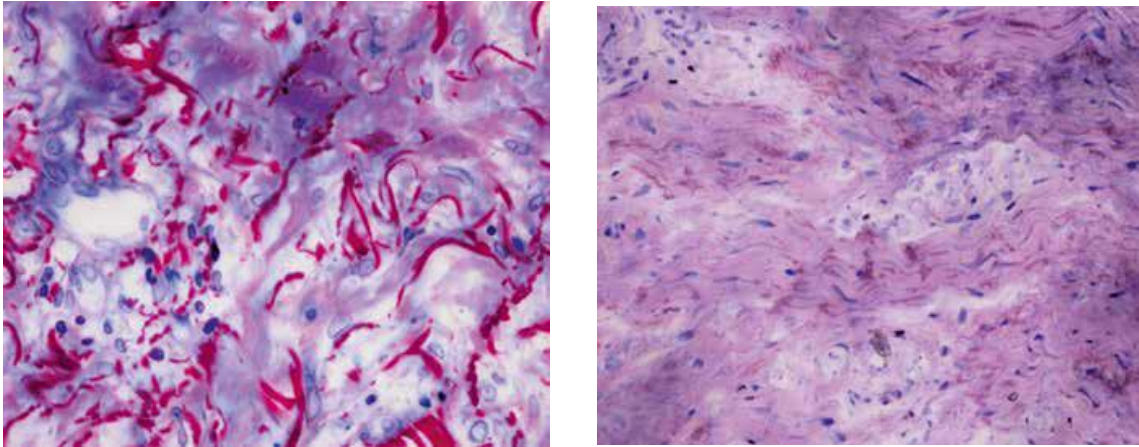


Fig. 3 Analisi istomorfometrica di campioni nei gruppi (a) a breve termine (16 settimane) e (b) a lungo termine (32 settimane). (a) I dettagli del tessuto molle in un campione del gruppo a breve termine mostrano ghiandole salivari, residui di membrana e leucociti. (b) Nel gruppo a lungo termine si vedevano epitelio ortocheratinizzato e tessuto connettivo con fasci di fibre collagene grossolane. L'osso neoformato e il Bio-Oss sono colorati di magenta scuro, l'osso originario di magenta chiaro e il tessuto molle di azzurro (sezioni molate non decalcificate colorate con azzurro II e pararosanilina).

### **Analisi statistica**

È stato eseguito un test di t di Student a due campioni per l'analisi dei cambiamenti dimensionali clinici della cresta ossea e dei cambiamenti dei parametri istologici fra i due gruppi di trattamento. Un valore  $P < 0,05$  è stato determinato come statisticamente significativo.

### **3. Risultati**

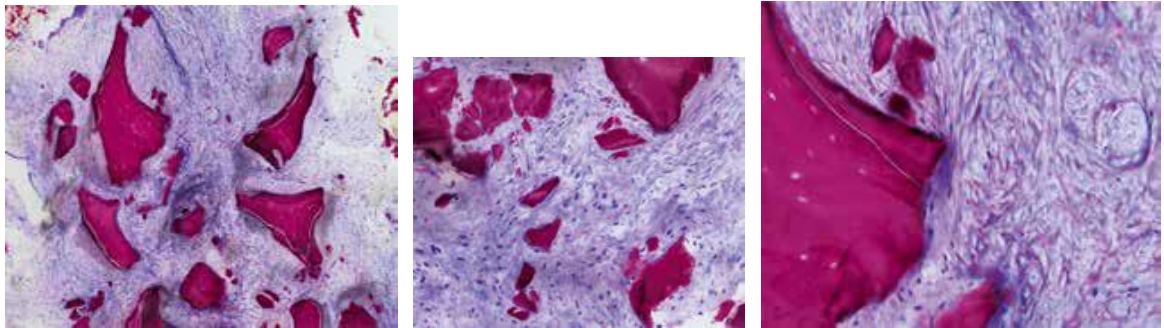
A seguito delle procedure di preservazione alveolare, in tutti i pazienti la guarigione clinica è avvenuta senza problemi e in assenza di infezione. Tutti i pazienti arruolati in entrambi i gruppi hanno completato con successo lo studio. Sono stati inclusi otto pazienti nel gruppo a breve termine e otto nel gruppo a lungo termine per ottenere i dati clinici e istologici.

#### **Risultati istologici**

Nel gruppo con guarigione a breve termine (16 settimane) nel tessuto connettivo mucoso si osservavano pochi resti della CM nativa di copertura, senza segni di reazioni infiammatorie. L'analisi istomologica del campione di tessuto molle mostrava la presenza di ghiandole



salivari e di residui del materiale della membrana. A livello osseo il riassorbimento del DBBM risultava scarso mostrando la presenza di particelle di biomateriale ampiamente distribuite nel volume della biopsia ossea. Le particelle residue risultavano inglobate in un tessuto connettivo grossolano in assenza di segni di apposizione di osso sul biomateriale. Il tessuto intergranulare non mostrava segni di reazione infiammatoria (Fig. 4).



*Fig. 4* Dettagli dell'analisi istomorfometrica nel gruppo a breve termine (16 settimane). Biopsie parzialmente preservate; particelle diBio-Oss (BO) inglobate e parzialmente incapsulate in tessuto connettivo con fibre di collagene grossolane; nessuna apposizione di ossoneoformato; nessuna reazione infiammatoria. (a) Dettagli dell'osso coronale. (b, c) Dettagli dell'osso apicale.

Nel gruppo a lungo termine (32 settimane) le aree di osso con osteociti che occupavano le lacune sono state identificate come tessuto osseo vitale, rappresentato principalmente da osso immaturo a 32 settimane. Aree di tessuto osseo, principalmente lamellare, senza la presenza di osteociti occupanti lacune sono state identificate, invece, come aree di osso residuo. Nel gruppo di guarigione a lungo termine si notava spesso apposizione di nuovo osso vitale sulle particelle residue di DBBM, il che comprendeva tessuto connettivo fibrovascolare lasso. L'analisi dei tessuti molli ha mostrato la presenza di ghiandole salivari e residui di materiale della membrana. Il tessuto intergranulare non mostrava segni di reazioni infiammatorie (Fig. 5).



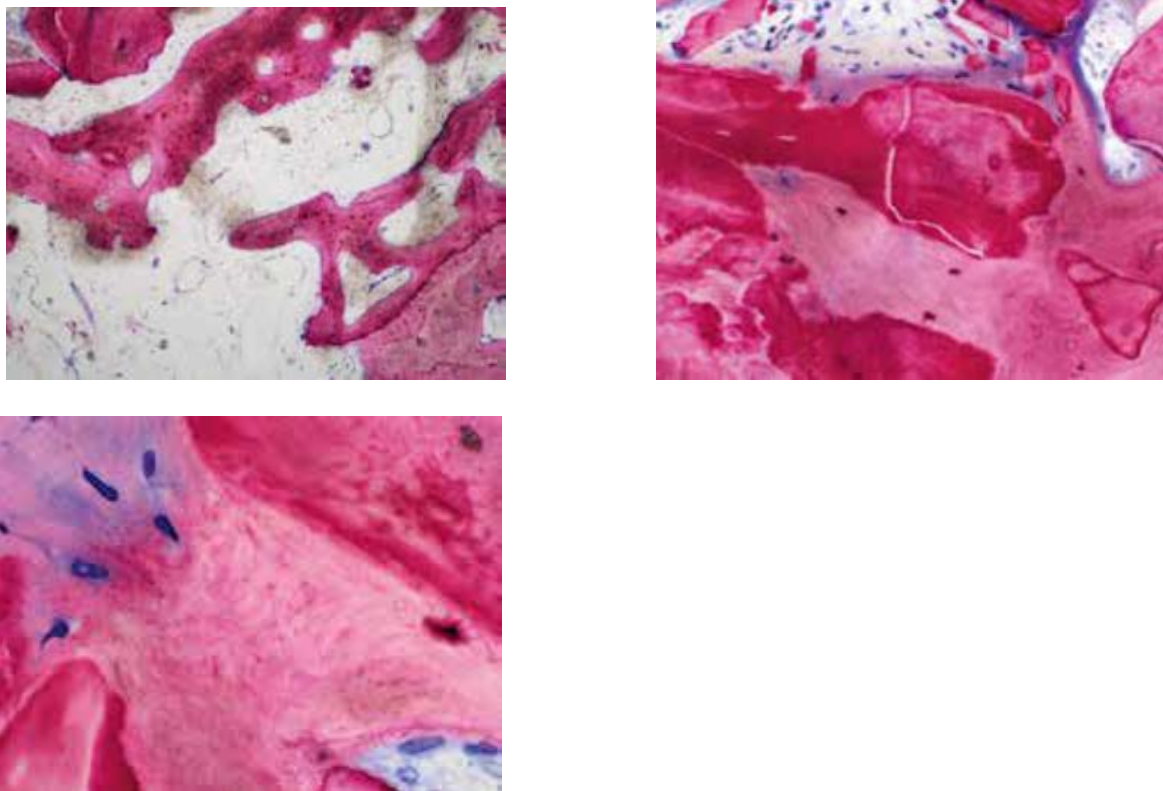


Fig. 5 *Dettagli dell'analisi istomorfometrica nel gruppo a lungo termine (32 settimane). Strutture trabecolari dense formate da ossolamellare maturo (LB) con particelle di Bio-Oss (BO) integrate; osteoblasti che generano osteoide (O).*

Differenze statisticamente significative fra il gruppo a breve termine e quello a lungo termine ( $P = 0,01$ ) sono state registrate nel valore percentuale di nuovo osso vitale. Il gruppo a breve termine aveva una media del 35,58% di osso vitale rispetto al 47,76% nel gruppo a lungo termine (Tabella 1). Riguardo alla percentuale di residui di DBBM, non c'era differenza significativa fra i gruppi (a breve termine 34,23%; a lungo termine 25,43%).

### **Risultati clinici**

Le misurazioni al tempo 0 dei valori di CEJ-AC vestibolari e palatali/linguali non mostravano differenze significative tra i due gruppi di studio. Un ulteriore confronto fra i gruppi ha dimostrato che, al tempo 0, non c'erano differenze significative di spessore medio della teca ossea vestibolare nel gruppo a breve termine ( $1,09 \pm 0,26$  mm) rispetto al gruppo a lungo termine ( $1,15 \pm 0,31$  mm) ( $P = 0,18$ ).

Per quanto concerne i cambiamenti di dimensione della cresta, non sono state rilevate differenze significative ( $P = 0,14$ ) fra i gruppi dopo il rientro chirurgico in termini di cambiamento della distanza verticale (CEJ-AC) vestibolare (a breve termine  $2,38 \pm 0,22$  mm e a lungo termine  $2,49 \pm 0,26$  mm) e della distanza verticale (CEJ-AC) palatale/linguale (a breve termine  $2,41 \pm 0,31$  mm e a lungo termine  $2,37 \pm 0,24$  mm). Inoltre, a seguito dell'intervento non c'era differenza significativa di ampiezza alveolare vestibolo-linguale ( $P = 0,12$ ) fra i gruppi (Tabella 2).

#### **4. Discussione**

È dimostrato che l'estrazione degli elementi dentari comporta una contrazione volumetrica della cresta ossea edentula dovuta ai molteplici processi biologici che intervengono nella guarigione della ferita ossea e mucosa [5, 13-15].

Le modifiche dimensionali interessano soprattutto la parete ossea vestibolare alveolare a causa del suo ridotto spessore [15, 17]. Molti Autori hanno identificato come critico uno spessore  $< 1$  mm della suddetta parete alveolare per il rilievo di una differenza statisticamente significativa nell'entità del riassorbimento osseo per valori superiori vs inferiori o uguali al millimetro [15, 31]. Questa condizione critica si presenta con maggiore frequenza nei settori estetici, maggiormente a livello mascellare e nei pazienti con fenotipo dento-parodontale "sottile e festonato". Nel caso di osso insufficiente nel sito implantare, è vantaggioso un approccio chirurgico in più fasi che includa l'aumento osseo. Una revisione sistematica ha dimostrato che 6 mesi dopo l'estrazione dentaria c'era un riassorbimento osseo orizzontale dal 29% al 63% e uno verticale dall'11% al 22% e che c'erano riduzioni dimensionali rapide nei primi 3-6 mesi, seguite da riduzioni graduali [44]. Per questa ragione sembra che un approccio chirurgico in più fasi sia necessario quando manca una parte della parete ossea vestibolare all'estrazione di un dente fallito. Inoltre è stato suggerito che un riassorbimento

esteso di placche vestibolari addirittura intatte sia un fenomeno comune dopo l'estrazione di denti [45, 46]. Alcuni Autori hanno stimato l'entità della contrazione volumetrica dopo procedure chirurgiche volte a ridurre il rimodellamento post-estrattivo [8]. Tra queste, l'utilizzo di DBBM sembra garantire i risultati migliori quando associato ad un innesto epitelio-connettivale [47], al posizionamento di una membrana barriera riassorbibile [8] o non riassorbibile [48], o all'uso di una matrice in collagene [49]. I migliori risultati per la guarigione dei tessuti molli sono stati riportati con l'uso di innesti epitelio-connettivali e di matrici in collagene. Rispetto alla guarigione spontanea delle ferite, queste ultime si sono dimostrate capaci di accelerare il processo di guarigione, di fornire un tessuto guarito dal colore più simile ai tessuti circostanti e di ridurre la dolenzia delle ferite [38]. Le matrici, inoltre, mostrano il vantaggio di ridurre in maniera statisticamente significativa la morbilità post-operatoria rispetto all'innesto [40].

Questa serie di casi ha comparato gli effetti istologici del tempo di guarigione sulla neoformazione ossea dopo preservazione della cresta alveolare con DBBM e una CM a breve (16 settimane) e a lungo termine (32 settimane) dopo estrazione di denti singoli monoradicolarati nella zona estetica anteriore. Rispetto al gruppo di guarigione a breve termine, il gruppo a lungo termine ha mostrato nuovo osso vitale in quantità significativamente maggiore prima dell'inserimento implantare.

Il disegno di questa serie di casi, che è stato usato con studi precedenti [50, 51], è stato scelto per permettere un confronto diretto dell'osso vitale neoformato fra i due gruppi con poche variabili confondenti, come ad esempio la fonte di materiale d'innesto osseo per entrambi i gruppi sperimentali e l'inclusione solo di siti nell'area anteriore. Lindhe e Coll. hanno riportato nette differenze di formazione dell'osso mineralizzato e di quantità di midollo osseo a 6 mesi fra gli alveoli post-estrattivi aumentati con DBBM e CM e siti non innestati [52]. Sulla base di questa osservazione pilota, il presente studio è stato ideato per comparare gli effetti clinici e istomorfometrici di DBBM + CM a breve e a lungo termine prima

dell'inserimento implantare dopo estrazione di denti singoli. Il presente studio ha dimostrato che dopo 16 settimane di guarigione (breve termine) si riscontrava una neoformazione media di osso vitale del 35,58%, rispetto al 47,4% a 32 settimane di guarigione (lungo termine). Rapporti precedenti analoghi erano in accordo con questi risultati, in quanto mostravano il 46,3% di formazione di osso vitale dopo 9 mesi di guarigione in seguito a preservazione della cresta con DBBM [53]. L'uso di DBBM senza una membrana nella preservazione della cresta alveolare dava il 25% di osso vitale, con il 15% di particelle d'innesto residue dopo solo 12 settimane di guarigione [54].

Per quanto riguarda i mutamenti dimensionali della cresta, non sono state rilevate fra i gruppi differenze significative di cambiamento di CEJ-AC e di ampiezza alveolare vestibolo-linguale. Tuttavia, tutti i valori clinici hanno mostrato un leggero miglioramento rispetto alle misurazioni iniziali. Una recente metanalisi ha dimostrato che la preservazione della cresta alveolare è efficace nel limitare la riduzione fisiologica della cresta rispetto alla sola estrazione dentaria [55, 56]. Inoltre, le analisi dei sottogruppi di questo studio ha rivelato che lo scollamento di un lembo, l'uso di una membrana, e l'applicazione di uno xenoinnesto o di un alloinnesto sono associati a risultati superiori, in particolare riguardo alla preservazione dell'altezza mediovestibolare e medio-linguale.

Inoltre, le ragioni della preservazione della cresta alveolare includono il mantenimento dei tessuti molli esistenti e il mantenimento di un volume stabile della cresta per ottimizzare i risultati funzionali ed estetici [57, 58]. In questo studio si è ottenuto un aumento di livello del tessuto cheratinizzato usando una tecnica di preservazione della cresta alveolare. L'influenza dei tessuti duri sulla posizione di tessuti molli perimplantari nei siti post-estrattivi è stata descritta in studi precedenti [59,60]. L'incremento del tessuto molle ottenuto in questo studio può essere dovuto alle caratteristiche del sito (e a una quantità di tessuto simile al biotipo originale del paziente) e all'ampiezza della gengiva cheratinizzata al

momento dell'estrazione, allo scollamento minimo di un lembo mucoperiosteo e all'assenza di parodontopatia [61-63].

Il risultato primario di questa serie di casi era quello di descrivere la guarigione istologica seguendo due diversi protocolli di guarigione per la preservazione della cresta alveolare con DBBM più CM a 32 settimane rispetto a 16 settimane, prima dell'inserimento implantare. Inoltre c'erano differenze di cambiamento di dimensione della cresta fra i protocolli con tempistiche diverse. L'approccio combinato alla preservazione della cresta alveolare con DBBM concomitante con l'applicazione di una CM, descritto in questa serie di casi, offriva un certo numero di vantaggi, come ad esempio l'uso di impianti con diametro adeguato e una limitazione alla quantità di riassorbimento alveolare, e consentiva un trattamento ottimale del livello dei tessuti cheratinizzati e dei tessuti molli facciali.

## **5. Conclusioni**

Tenendo in considerazione i limiti del presente studio, come ad esempio l'assenza di tomografia computerizzata cone beam o di valutazioni con uno scanner orale che potrebbero essere utili per analizzare al meglio l'anatomia residua dei tessuti molli e duri, Il presente studio ha mostrato risultati clinici e istologici promettenti.

La tecnica di preservazione alveolare con DBBM e una CM si è dimostrata un approccio chirurgico sicuro e semplice che ha permesso di ottenere risultati soddisfacenti. Sono, tuttavia, necessari ulteriori studi con un campione più ampio per comprendere meglio il ruolo e i potenziali benefici di questo protocollo di xenoinnesto combinato nella tecnica di preservazione della cresta alveolare.



## 6. BIBLIOGRAFIA

1. Schroeder HE. The periodontium 1986. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag
2. Amler MH. The time sequence of tissue regeneration in human extraction wounds. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 1969;27:309-318.
3. Cardaropoli G, Araujo MG, Lindhe J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *J. Clin. Periodontol.* 2003;30:809-818.
4. Araujo MG, Silva CO, Misawa M, Sukekava F. Alveolar socket healing: what can we learn? *Periodontology 2000.* 2015;68:122–134.
5. Araujo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J. Clin. Periodontol.* 2005;32:212–218.
6. Johnson K. A study of the dimensional changes occurring in the maxilla following tooth extraction. *Aust. Dent. J.* 1969;14:241–244.
7. Pietrokovski J, Starinsky R, Arensburg B, Kaffe I. Morphologic characteristics of bony edentulous jaws. *J. Prosthodont.* 2007;16:141–147.
8. Cardaropoli D, Tamagnone L, Roffredo A, Gaveglione L, Cardaropoli G. Socket preservation using bovine bone mineral and collagen membrane: a randomized controlled clinical trial with histologic analysis. *Int. J. Period. Rest. Dent.* 2012;32:421–430.
9. Barone A, Todisco M, Ludovichetti M, et al. A prospective, randomized, controlled, multicenter evaluation of extraction socket preservation comparing two bovine xenografts: Clinical and histologic outcomes. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2013;33:795–802.
10. Pelegrine AA, da Costa CE, Correa ME, Marques JF Jr. Clinical and histomorphometric evaluation of extraction sockets treated with an autologous bone marrow graft. *Clin Oral Implants Res* 2010;21:535–542.

11. Iasella JM, Greenwell H, Miller RL, et al. 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. *J Periodontol* 2003;74:990–999.
12. Schlee M, Seitz O, Sader R. Histologic characterization of human extraction sockets 3 years after grafting: A case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2015;35:381–386.
13. Tan WL, Wong TLT, Wong MCM, Lang NP A systematic review of post-extraction alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clin. Ora. Impl. Res.* 2012;23(5 Suppl):1-21.
14. Schropp L, Wenzel A, Kostopoulos L, Karring T. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *Int. J. Period. Rest. Dent.* 2003;23:313–323.
15. Chappuis V, Engel O, Reyes M, Shahim K, Noltel P, Buser D. Ridge alterations post-extraction in the esthetic zone: a 3D analysis with CBCT. *J. Dent. Res.* 2013;92(12 Suppl):195S-201S.
16. Olsson M, Lindhe J, Marinello CP. On the relationship between crown form and clinical features of the gingiva in adolescents. *J. Clin. Periodontol.* 1993;20:570-577.
17. Huynh-Ba G, Pjetursson BE, Sanz M, Cecchinato D, Ferrus J, Lindhe J, Lang NP. Analysis of the socket bone wall dimensions in the upper maxilla in relation to immediate implant placement. *Clin. Oral Impl. Res.* 2010;21:37-42.
18. Hämmerle CHF, Tarnow D. The etiology of hard- and soft-tissue deficiencies at dental implants: A narrative review. *J. Clin. Periodontol.* 2018;45(Suppl 20):S267–S277.
19. Araujo MG, Lindhe J. Ridge alterations following tooth extraction with and without flap elevation: an experimental study in the dog. *Clin. Oral Impl. Res.* 2009;20:545–549.
20. Sanz M, Cecchinato D, Ferrus J, Pjetursson BE, Lang NP, Lindhe J. A prospective, randomized-controlled clinical trial to evaluate bone preservation using implants with



- different geometry placed into extraction sockets in the maxilla. *Clin. Oral Impl. Res.* 2010;21:13–21.
21. Botticelli D, Berglundh T, Lindhe J. Hard tissue alterations following immediate implant placement in extraction sites. *J. Clin. Periodontol.* 2004;31:820-828.
  22. Araujo MG, Sukekava F, Wennstrom JL, Lindhe J. Tissue modeling following implant placement in fresh extraction sockets. *Clin. Oral Impl. Res.* 2006;17:615–624.
  23. Mardas N, Chadha V, Donos N. Alveolar ridge preservation with guided bone regeneration and a synthetic bone substitute of a bovine-derived xenograft: A randomized, controlled clinical trial. *Clin Oral Implants Res* 2010;21:688–698.
  24. Isola G, Matarese G, Cordasco G, Rotondo F, Crupi A, Ramaglia L. Anticoagulant therapy in patients undergoing dental interventions: A critical review of the literature and current perspectives. *Minerva Stomatol* 2015;64:21–46.
  25. Rosa AC, da Rosa JC, Dias Pereira LA, Francischone CE, Sotto-Maior BS. Guidelines for selecting the implant diameter during immediate implant placement of a fresh extraction socket: A case series. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2016;36:401–407.
  26. Laurito D, Cugnetto R, Lollobrigida M, et al. Socket preservation with d-PTFE membrane: Histologic analysis of the newly formed matrix at membrane removal. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2016;36:877–883.
  27. Schliephake H, Schmelzeisen R, Husstedt H, Schmidt-Wondera LU. Comparison of the late results of mandibular reconstruction using nonvascularized or vascularized grafts and dental implants. *J Oral Maxillofac Surg* 1999;57:944–950.
  28. Scarano A, Piattelli A, Perrotti V, Manzon L, Iezzi G. Maxillary sinus augmentation in humans using cortical porcine bone: A histological and histomorphometrical evaluation after 4 and 6 months. *Clin Implant Dent Relat Res* 2011;13:13–18.

29. Araújo MG, Liljenberg B, Lindhe J. Dynamics of Bio-Oss Collagen incorporation in fresh extraction wounds: An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 2010;21:55–64.
30. Chiantella GC. Horizontal guided bone regeneration in the esthetic area with rhPDGF-BB and anorganic bovine bone graft: A case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2016;36:e9–e15.
31. Iorio-Siciliano V, Blasi A, Nicolò M, Iorio-Siciliano A, Riccitiello F, Ramaglia L. Clinical outcomes of socket preservation utilising bovine- derived xenograft collagen and collagen membrane post tooth extraction. A 6-month randomized controlled clinical trial. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2017;37:e290–e296.
32. Araujo MG, Linder E, Wennstrom JL, Lindhe J. The influence of Bio-Oss collagen on healing of an extraction socket: an experimental study in the dog. *Int. J. Period. Rest. Dent.* 2008;28:123–135.
33. Sbordone C, Toti P, Martuscelli R, Guidetti F, Ramaglia L, Sbordone L Retrospective volume analysis of bone remodeling after tooth extraction with and without deproteinized bovine bone mineral insertion. *Clin. Oral Impl. Res.* 2016;27:1152-1159.
34. Iorio Siciliano V, Blasi A, Nicolo' M, Iorio Siciliano A, Riccitiello F, Ramaglia L Clinical outcomes of socket preservation using bovine derived xenograft collagen and collagen membrane post-tooth extraction: a 6 month randomized controlled clinical trial. *Int. J. Period. Rest. Dent.* 2017;37:290-296.
35. Jung R, Siegenthaler D, Hammerle C. Post-extraction tissue management: a soft tissue punch technique. *Int. J. Period. Rest. Dent.* 2004;24:545-553.
36. Jung RE, Ioannidis A, Hammerle CHF, Thoma DS. Alveolar ridge preservation in the esthetic zone. *Periodontology 2000.* 2018;77:165–175.
37. Sanz M, Lorenzo R, Aranda JJ, Martin C, Orsini M. Clinical evaluation of a new collagen matrix (Mucograft prototype) to enhance the width of keratinized tissue in patients with

- fixed prosthetic restorations: a randomized prospective clinical trial. *J. Clin. Periodontol.* 2009;36:868-876.
38. Thoma DS, Sancho-Puchades M, Ettlín DA, Hammerle CH, Jung RE. Impact of a collagen matrix on early healing, aesthetics and patient morbidity in oral mucosal wounds – a randomized study in humans. *J. Clin. Periodontol.* 2012;39:157–165.
39. Lindhe J, Cecchinato D, Donati M, Tomasi C, Liljenberg B. Ridge preservation with the use of deproteinized bovine bone mineral. *Clin. Oral Impl. Res* 2014;25:786–790.
40. Meloni SM, Tallarico M, Lolli FM, Deledda A, Pisano M, Jovanovic Sa. Post-extraction socket preservation using epithelial connective tissue graft vs. porcine collagen matrix. 1-year results of a randomised controlled trial. *Eur. J. Oral Implantol.* 2015;8:39–48.
41. Ghanaati S, Schlee M, Webber MJ, et al. Evaluation of the tissue reaction to a new bilayered collagen matrix in vivo and its translation to the clinic. *Biomed Mater* 2011;6:015010.
42. Thoma DS, Sancho-Puchades M, Ettlín DA, Hämmerle CH, Jung RE. Impact of a collagen matrix on early healing, aesthetics and patient morbidity in oral mucosal wounds—A randomized study in humans. *J Clin Periodontol* 2012;39:157–165.
43. Atieh MA, Alsabeeha NH, Payne AG, Duncan W, Faggion CM, Esposito M. Interventions for replacing missing teeth: alveolar ridge preservation techniques for dental implant site development. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015;28:CD010176.
44. Ramaglia L, Sbordone C, Saviano R, Martuscelli R, Sbordone L. Marginal masticatory mucosa dimensional changes in immediate post-extractive implants: A 2 year prospective cohort study. *Clin Oral Implants Res* 2015;26:1495–1502.
45. Cosyn J, Hooghe N, De Bruyn H. A systematic review on the frequency of advanced recession following single immediate implant treatment. *J Clin Periodontol* 2012;39:582–589.

46. Avila-Ortiz G, Rodriguez JC, Rudek I, Benavides E, Rios H, Wang HL. Effectiveness of three different alveolar ridge preservation techniques: A pilot randomized controlled trial. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2014;34:509–521.
47. Jambhekar S, Kerner F, Bidra AS. Clinical and histologic outcomes of socket grafting after flapless tooth extraction: A systematic review of randomized clinical trials. *J. Prosthet. Dent.* 2015;113:371-382.
48. Aimetti M, Manavella V, Cricenti L, Romano F. A novel procedure for the immediate reconstruction of severely resorbed alveolar sockets for advanced periodontal disease. *Case Rep. Dent.* 2017:9370693.
49. Maiorana C, Poli PP, Deflorian M, Testori T, Mandelli F, Nagursky H, Vinci R. Alveolar socket preservation with demineralised bovine bone mineral and a collagen matrix. *J. Periodontal Implant Sci.* 2017;47:194-210.
50. Beck TM, Mealey BL. Histologic analysis of healing after tooth extraction with ridge preservation using mineralized human bone allograft. *J Periodontol* 2010;81:1765–1772.
51. Whetman J, Mealey BL. Effect of healing time on new bone formation after tooth extraction and ridge preservation with demineralized freeze-dried bone allograft: A randomized controlled clinical trial. *J Periodontol* 2016;87:1022–1029
52. Lindhe J, Araújo MG, Bufler M, Liljenberg B. Biphasic alloplastic graft used to preserve the dimension of the edentulous ridge: An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 2013;24:1158–1163.
53. Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets: 2. Histochemical observations at 9 months. *J Periodontol* 2001;72:152–159.
54. Heberer S, Al-Chawaf B, Jablonski C, Nelson JJ, Lage H, Nelson K. Healing of ungrafted and grafted extraction sockets after 12 weeks: A prospective clinical study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2011;26:385–392.

55. Cavuoti S, Matarese G, Isola G, Abdolreza J, Femiano F, Perillo L. Combined orthodontic-surgical management of a transmigrated mandibular canine. *Angle Orthod* 2016;86:681–691.
56. Nevins M, Cappetta EG, Cullum D, et al. Socket preservation procedure with equine bone mineral: A case series. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2014;34(Suppl 3):s51–s57.
57. Vignoletti F, Matesanz P, Rodrigo D, Figuero E, Martin C, Sanz M. Surgical protocols for ridge preservation after tooth extraction. A systematic review. *Clin Oral Implants Res* 2012;23(suppl):s22–s38.
58. 39. Nevins ML, Camelo M, Schupbach P, Nevins M, Kim SW, Kim DM. Human buccal plate extraction socket regeneration with recombinant human platelet-derived growth factor BB or enamel matrix derivative. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2011;31:481–492.
59. 40. Araújo MG, Linder E, Lindhe J. Bio-Oss Collagen in the buccal gap at immediate implants: A 6-month study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 2011;22:1–8.
60. 41. Caneva M, Botticelli D, Rossi F, Cardoso LC, Pantani F, Lang NP. Influence of implants with different sizes and configurations installed immediately into extraction sockets on peri-implant hard and soft tissues: An experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2012;23:396–401.
61. 42. Matarese G, Currò M, Isola G, et al. Transglutaminase 2 up-regulation is associated with RANKL/OPG pathway in cultured HPDL cells and THP-1-differentiated macrophages. *Amino Acids* 2015;47:2447–2455.
62. 43. Isola G, Matarese G, Williams RC, et al. The effects of a desiccant agent in the treatment of chronic periodontitis: A randomized, controlled clinical trial. *Clin Oral Investig* 2018;22:791–800.