



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Estudio sobre la influencia de la sutura y la técnica quirúrgica en la estabilidad dimensional primaria en la regeneración ósea guiada en implantología mediante el uso de la tomografía computada de haz cónico

Javier Mir Mari

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Programa de Doctorado Ciencias Odontológicas

ESTUDIO SOBRE LA INFLUENCIA DE LA SUTURA Y LA TÉCNICA QUIRÚRGICA
EN LA ESTABILIDAD DIMENSIONAL PRIMARIA EN LA REGENERACIÓN
ÓSEA GUIADA EN IMPLANTOLOGÍA MEDIANTE EL USO DE LA TOMOGRAFÍA
COMPUTADA DE HAZ CÓNICO

DOCTORANDO:

Javier Mir Mari

DIRECTOR DE TESIS:

Prof. Dr. Eduard Valmaseda Castellón

Universidad de Barcelona. Facultad de odontología. Departamento de
Odontoestomatología. Unidad de Patología Quirúrgica Bucal y Maxilofacial

TUTORA DE TESIS:

Prof^a. Dra. M. Cristina Manzanares Céspedes

Universidad de Barcelona. Facultad de Medicina. Departamento de Patología y
Terapéutica Experimental. Unidad de Anatomía y Embriología Humana



El Prof. Dr. Eduard Valmaseda Castellón, Profesor Titular del Departamento de Odontostomatología de la Universidad de Barcelona, en calidad de Director de Tesis, y la Prof^a. Dra. Cristina Manzanares Céspedes, Profesora Titular del Departamento de Patología Terapéutica Experimental, en calidad de Tutora de Tesis,

CERTIFICAN: Que el presente trabajo, *"Estudio sobre la influencia de la sutura y la técnica quirúrgica en la estabilidad dimensional primaria en la regeneración ósea guiada en implantología mediante el uso de la tomografía computada de haz cónico"*, presentado por Javier Mir Mari como tesis doctoral, ha sido realizada bajo nuestra supervisión y corresponde fielmente a los resultados obtenidos. Una vez redactada la presente memoria doctoral, ha sido revisada por nosotros y la declaramos adecuada para ser presentada y aspirar al grado de Doctor en Odontología delante del tribunal que en su día se designe.

Para que conste, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firmamos el presente certificado.

Barcelona, 15 de Noviembre del 2016

Prof. Dr. Eduard Valmaseda Castellón

Universidad de Barcelona. Facultad de odontología. Departamento de Odontostomatología. Unidad de Patología Quirúrgica Bucal y Maxilofacial

Prof^a. Dra. M. Cristina Manzanares Céspedes

Universidad de Barcelona, Facultad de Medicina. Departamento de Patología y Terapéutica Experimental. Unidad de Anatomía y Embriología Humana

“A Elena por acompañarme allá donde vaya”

“Science is not only a disciple of reason but, also, one of romance and passion”

Stephen Hawking

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. Dr. Eduard Valmaseda Castellón, Profesor Titular de Patología Quirúrgica Bucal y Maxilofacial y Director del Máster de Cirugía Bucal e Implantología Bucofacial de la Universidad de Barcelona;

al Prof. Dr. Ronald Jung, Jefe de la División de Implantología y Vicepresidente del centro de Medicina Dental de la Universidad de Zúrich;

y al Prof. Dr. Goran Benic, Profesor Senior e investigador asociado del centro de Medicina Dental de la Universidad de Zúrich;

Por haberme acompañado y aconsejado en este viaje. Por su implicación y motivación, por ser ejemplo de dedicación y pasión por la investigación y las cosas bien hechas.

A la Prof^a. Dra. Cristina Manzanares Céspedes, Profesora Titular de Anatomía y Embriología Humana en la Universidad de Barcelona, por su supervisión y seguimiento de esta tesis doctoral.

A la Dra. Malgorzata Roos, Profesora Titular De Bioestadística del Departamento de Bioestadística de la Universidad de Zúrich, por su ayuda en el análisis estadístico de los resultados de esta tesis doctoral.

Al Prof. Dr. Rui Figueiredo, Profesor Asociado de Cirugía Bucal y Coordinador del Máster de Cirugía Bucal e Implantología Bucofacial de la Universidad de Barcelona, por su amistad incondicional y por haber sido el primero en apostar por mí.

A mis padres Janet y Pedro y a mi hermano Pedro por su apoyo incondicional a lo largo de toda mi vida.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS

TESIS COMO COMPENDIO DE TRABAJOS PUBLICADOS	17
RESUMEN	21
INTRODUCCIÓN	23
MATERIAL Y MÉTODOS	23
RESULTADOS	25
CONCLUSIONES	25
RESUMEN DE ABREVIATURAS	27
INTRODUCCIÓN	29
OBJETIVOS	37
HIPÓTESIS	41
APORTACIONES DEL DOCTORANDO	45
PRESENTACIÓN DE LOS ESTUDIOS REALIZADOS	49
ESTUDIO I:	51
MATERIAL Y MÉTODOS	54
RESULTADOS	64
ESTUDIO II:	73
MATERIAL Y MÉTODOS	76
RESULTADOS	85
DISCUSIÓN	99
Principales resultados.....	101
Sutura y cierre del colgajo	102
Xenoinjerto en bloque sólido	103
Chinchetas de Fijación.....	104
Xenoinjerto en bloque blando en forma de L en combinación con xenoinjerto particulado..	105
Validación del modelo de investigación	107
Limitaciones de la presente investigación	107
Aplicabilidad clínica de los resultados	109
Implicaciones para la investigación futura	110
CONCLUSIONES	111
REFERENCIAS	115
ANEXOS	125
ESTUDIO I	127
PERMISO DE REPRODUCCIÓN	129
PUBLICACIÓN ORIGINAL	137
ESTUDIO II	147
PERMISO DE REPRODUCCIÓN	149
PUBLICACIÓN ORIGINAL	157

**TESIS COMO COMPENDIO
DE TRABAJOS PUBLICADOS**

TESIS COMO COMPENDIO DE TRABAJOS PUBLICADOS

La presente tesis doctoral, de acuerdo con el informe correspondiente, autorizado por los Directores de Tesis y el órgano responsable del Programa de Doctorado, se presenta como un compendio de trabajos previamente publicados. Las referencias completas de los artículos que constituyen el cuerpo de la tesis y que se adjuntan como anexos son los siguientes:

Mir-Mari, J., Wui, H., Jung, R.E., Hämmerle, C.H. & Benic, G.I. (2016) Influence of blinded wound closure on the volume stability of different GBR materials: an in vitro cone-beam computed tomographic examination. *Clinical Oral Implants Research* 27 (2), 258-265.

Mir-Mari, J., Benic, G.I., Valmaseda-Castellón, E., Hämmerle, C.H. & Jung, R.E. (2016) Influence of wound closure on the volume stability of particulate and non particulate GBR materials: an in vitro cone-beam computed tomographic examination. Part II. *Clinical Oral Implants Research* 00, 1-9 [Epub ahead of print].

RESUMEN

RESUMEN

Introducción

La regeneración ósea guiada (ROG) mediante xenoinjertos particulados cubiertos por una membrana de colágeno en combinación con la colocación de implantes dentales se ha convertido hoy en día en un procedimiento de rutina. Aunque uno de los aspectos más críticos para el éxito de la ROG es la estabilización del material de regeneración, sorprende observar la falta de conocimiento y evidencia que existe en relación al comportamiento dimensional de los materiales de regeneración, en especial durante la sutura del colgajo mucoperióstico o las primeras fases de cicatrización.

Por lo tanto, los objetivos de la presente investigación fueron, a grandes rasgos, primero, evaluar la influencia de las maniobras de sutura del colgajo sobre la estabilidad dimensional y, segundo, estudiar la influencia de las características del material de regeneración en la mejora de la estabilidad dimensional durante la sutura del colgajo.

Material y métodos

Se diseñó un estudio in vitro en mandíbula de cerdo en el que se crearon 40 defectos periimplantarios de 3 paredes en mandíbulas de cerdo, 20 para cada fase del estudio.

En la primera parte de la investigación se compararon 3 combinaciones de materiales de regeneración:

- (1) Particulado (xenoinjerto particulado + membrana de colágeno) (n=20).
- (2) Particulado + Chinchetas (I) (xenoinjerto particulado + membrana de colágeno + chinchetas de fijación) (n=20).

- (3) Bloque sólido (xenoinjerto en bloque sólido + membrana de colágeno) (n=20).

Cada defecto óseo fue utilizado 3 veces, una por cada técnica de regeneración.

En la segunda parte, se compararon 2 técnicas de regeneración:

- (1) Particulado + Chinchetas (II) (xenoinjerto particulado + membrana de colágeno + chinchetas de fijación) (n=20)
- (2) Bloque blando en L (xenoinjerto en bloque blando en forma de L+ xenoinjerto particulado + membrana de colágeno + chinchetas de fijación) (n=20).

En este caso, cada defecto óseo fue utilizado 2 veces, una por cada técnica de regeneración.

Se tomaron tomografías computadas de haz cónico (CBCT) antes y después de la sutura de los colgajos. El grosor en sentido horizontal (HT) de la zona aumentada (suma del grosor del sustituto óseo y la membrana) fue medido a nivel del cuello del implante (HT_{0mm}) y a 1, 2, 3, 4 y 5 mm ($HT_{1mm} - HT_{5mm}$) apicalmente. En el grupo Bloque blando en L de la segunda parte de la investigación se registraron 2 medidas adicionales: el grosor vertical (VT) y el grosor a 45° (45-T) medidas desde el cuello del implante en sentido coronal y vestibular en 45°, respectivamente. El cambio en el grosor horizontal después del cierre del colgajo se calculó mediante valores absolutos (milímetros) y como valores relativos (%). El análisis estadístico se llevó a cabo por medio de tests de ANOVA para medidas repetidas.

Resultados

En la primera parte de la investigación las maniobras de la sutura provocaron cambios significativos en el grosor de la regeneración a nivel de HT_{0mm} y HT_{1mm} en todos los grupos ($p \leq 0,05$). El uso de chinchetas o un xenoinjerto en bloque sólido mejoraron significativamente la estabilidad dimensional en comparación con un xenoinjerto particulado y una membrana de colágeno ($p \leq 0,05$). La pérdida de grosor a nivel del cuello del implante (HT_{0mm}) fue del $42,8 \pm 17,9\%$ (DS) para el grupo Particulado, del $22,9 \pm 21,2\%$ (DS) para Particulado + Chinchetas y del $20,2 \pm 18,9\%$ (DS) para el grupo Bloque ($p \leq 0,05$). Esta pérdida se redujo hasta el $2,4 \pm 9,2\%$ (DS) en el grupo Bloque blando en L de la segunda parte del estudio ($p \leq 0,05$). Por último, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas a nivel de $HT_{0mm} - HT_{5mm}$ en la comparación entre el grupo Particulado + Chinchetas (I) de la primera parte de la investigación y la repetición del mismo procedimiento en la segunda parte (Particulado + Chinchetas (II)) ($p > 0,05$).

Conclusiones

El cierre del colgajo mucoperióstico causó un desplazamiento significativo del material de regeneración y un colapso parcial de la membrana de colágeno, en especial en la porción más coronal de la regeneración. La estabilidad del material de regeneración mejoró sustancialmente cuando se utilizaron chinchetas de fijación o cuando se utilizó un sustituto óseo en bloque sólido en lugar del sustituto óseo en forma particulada. La estabilidad dimensional de la ROG durante la sutura, en particular en su porción más coronal, mejoró de forma significativa al utilizar una combinación de sustituto óseo en bloque blando en forma de L junto con xenoinjerto particulado y membrana de colágeno fijada con chinchetas. Por último, el modelo de defectos periimplantarios in vitro en mandíbula de cerdo se mostró como un método fiable para la investigación de la estabilidad primaria de los biomateriales utilizados en la ROG.

RESUMEN DE ABREVIATURAS

RTG: Regeneración tisular guiada

ROG: Regeneración ósea guiada

DBBM: Hueso de origen bovino desproteínizado

CBCT: Tomografía computada de haz cónico

HT: Grosor horizontal

HT_{0mm}: Grosor horizontal a la altura del cuello del implante

HT_{1mm}: Grosor horizontal 1 mm por debajo del cuello del implante

HT_{2mm}: Grosor horizontal 2 mm por debajo del cuello del implante

HT_{3mm}: Grosor horizontal 3 mm por debajo del cuello del implante

HT_{4mm}: Grosor horizontal 4 mm por debajo del cuello del implante

HT_{5mm}: Grosor horizontal 5 mm por debajo del cuello del implante

VT: Grosor vertical desde el cuello del implante

45-T: Grosor a 45° desde el cuello del implante

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

La implantología ha transformado la odontología a lo largo de los últimos 40 años. En las décadas de 1960 y 1970 el grupo de investigación dirigido por el Dr. Per-Ingvar Branemark de la Universidad de Gotemburgo (Suecia) (Branemark y cols. 1969; Branemark y cols. 1977) descubrió y describió ampliamente el fenómeno de oseointegración. Este mecanismo de curación se caracteriza por una aposición directa de hueso vital sobre la superficie del titanio. Desde ese momento, la posibilidad de restaurar o restituir una dentición plenamente funcional y estética bajo unas elevadas condiciones de salud y confort para el paciente, mediante unos pequeños dispositivos metálicos de titanio que replican una raíz dental, revolucionaron la odontología. Uno de los principales requisitos para una oseointegración fiable y estable a largo plazo fue la colocación del implante dental en una cresta ósea con un grosor, altura y calidad adecuadas (Branemark y cols. 1969; Schroeder y cols. 1981; Albrektsson y cols. 1981).

Debido a la atrofia ósea que sufre el alveolo después de la pérdida de un diente, es habitual encontrarse con crestas óseas delgadas (Tan y cols. 2012). En estos casos, conseguir una correcta emergencia del implante dental que siga los parámetros de la futura restauración protésica puede ser complicado y dar lugar a dehiscencias o fenestraciones óseas. Para evitarlo, se han propuesto una multitud de técnicas para la regeneración ósea.

A principios de los años 80, las observaciones del grupo de Nyman y Karring (Nyman y Karring 1979; Nyman y cols. 1982; Karring y cols. 1982), en el ámbito de la regeneración de los tejidos periodontales, permitieron determinar que las primeras células que invaden una herida quirúrgica marcan el tipo de tejido que finalmente se formará. A partir de este principio biológico, desarrollaron una técnica basada en la utilización de membranas de barrera que evitaba el acceso de las células no deseadas, a la vez que permitía el crecimiento de las células

con capacidad para formar el tejido deseado. Esta técnica fue acuñada con el término regeneración tisular guiada (RTG) y permitía regenerar los tejidos periodontales, incluido el cemento radicular, ligamento periodontal y el hueso alveolar (Gottlow y cols. 1984; Gottlow y cols. 1986). Rápidamente, estos principios fueron aplicados para la regeneración de defectos óseos aislados, independientes de los tejidos periodontales (Becker y Becker 1990; Buser y cols. 1990; Nyman 1991). Estas nuevas técnicas recibieron el nombre de regeneración ósea guiada (ROG).

Las técnicas de ROG pueden aplicarse de manera diferida (Lang y cols. 1994) o simultánea a la colocación del implante dental (Dahlin y cols. 1991; Dahlin y cols. 1995). De acuerdo con Buser (2009) será posible la colocación simultánea del implante dental siempre y cuando se puedan conseguir los siguientes requisitos:

- Correcta posición tridimensional del implante en relación a la función y la estética.
- Adecuada estabilidad primaria.
- Morfología favorable del defecto óseo para conseguir una regeneración ósea predecible.

En caso de no cumplirse dichas condiciones es recomendable llevar a cabo una regeneración ósea primaria y post-poner la colocación de los implantes de 6 a 9 meses.

La ROG simultánea con la colocación del implante dental se ha convertido, hoy en día, en un tratamiento de rutina en la implantología. Estos procedimientos permiten recuperar una adecuada anatomía ósea y colocar el implante en la posición protésica óptima (Benic y Hämmerle 2014). El uso de un injerto particulado de hueso de origen bovino desproteínizado (DBBM) cubierto con una membrana reabsorbible de colágeno es el procedimiento más usado y documentado para la regeneración de dehiscencias y fenestraciones óseas

asociadas a la colocación de implantes dentales (Chiapasco y cols. 2009; Jensen y Terheyden 2009). Estas técnicas han demostrado ser una opción altamente fiable y reproducible para conseguir la regeneración ósea (Benic y cols. 2009; Zumstein y cols. 2012; Jung y cols. 2013a) junto con la posterior oseointegración del implante dental (Warrer y cols. 1991; Becker y cols. 1991; Wilson y cols. 1998; Palmer y cols. 1998; Kohal y cols. 1999). No sólo eso, sino que también existen numerosos datos que demuestran que la tasa de supervivencia de implantes dentales colocados en hueso regenerado es similar a aquellos colocados íntegramente en hueso no regenerado (Mayfield y cols. 1998; Zitzmann y cols. 2001; Benic y cols. 2009; Zumstein y cols. 2012; Jung y cols. 2013a).

El éxito de estas técnicas de regeneración depende, en gran medida, del cumplimiento de una serie de requisitos fundamentales (Misch y Misch-Dietsh 2008; Buser 2009):

- Ausencia de infección.
- Preparación adecuada del lecho receptor.
- Uso de materiales biocompatibles.
- Mantenimiento del espacio.
- Estabilidad del coágulo y del injerto.
- Cierre primario sin tensión.
- Tiempos de curación adecuados.

Aunque aceptados y adoptados por la gran mayoría de la comunidad odontológica, y a pesar de los excelentes resultados clínicos de las técnicas de ROG, la evidencia científica de estos principios es escasa en algunos casos. En particular, las propiedades mecánicas y el comportamiento clínico de la región aumentada durante el cierre y curación de la herida quirúrgica son todavía poco conocidos. La anatomía del defecto, las propiedades mecánicas del material de relleno (Lorenzoni y cols. 1998; Zitzmann y cols. 1999; Carpio y cols. 2000;

Von Arx y cols. 2001) o las fuerzas de compresión aplicadas durante el cierre del colgajo o durante el propio proceso de cicatrización y curación post-quirúrgica (Zellin y cols. 1995; Mellonig y cols. 1998; Strietzel y cols. 2006; Schwarz y cols. 2007) son algunos de los aspectos que se han relacionado vagamente con la pérdida de estabilidad inicial de la región aumentada.

Aunque muchas veces infravalorado, uno de los pasos más críticos de la regeneración ósea es la sutura del colgajo. Su manipulación y la presión ejercida por el hilo de sutura sobre una regeneración inestable pueden producir desplazamientos significativos del material de regeneración que acaben por comprometer el éxito de la misma. La estabilidad de la regeneración puede ser mejorada de varias maneras, ya sea aumentando las propiedades mecánicas de la membrana, incrementando la estabilidad dimensional del injerto óseo o fijando el material de regeneración.

Una de las opciones más estudiada es el uso de membranas no reabsorbibles de poli-tetra-fluoruro de etileno expandido (e-PTFE) con refuerzo de titanio (Dahlin y cols. 1995; Fugazzotto 1997; Zitzmann y cols. 1997). Este tipo de membranas, que fue ampliamente utilizada en los inicios de las técnicas de RTG y ROG, ofrece un efecto de barrera y mantenimiento de espacio excelentes, pero se asocia a determinadas complicaciones (Simion y cols. 1994, Chiapasco y Zaniboni 2009):

- Una tasa relativamente alta de exposición de la membrana e infección que pueden comprometer el resultado final de la ROG.
- Un manejo clínico difícil debido a sus propiedades hidrofóbicas y rigidez que requiere la estabilización con pins de fijación o micro-tornillos.
- Así como la necesidad de un segundo procedimiento quirúrgico para la retirada de la membrana.

Por este motivo, y a pesar de haber demostrado una alta capacidad para la regeneración ósea, sólo se recomienda su uso rutinario en defectos óseos y anatomías muy desfavorables (por ejemplo, defectos óseos verticales y/o defectos horizontales no contenidos) (Benic y Hämmerle 2014). Estas limitaciones se vieron superadas tras la aparición de las primeras membranas reabsorbibles a principios de los años 90 (Gottlow 1993; Gottlow y cols. 1994). Dichas membranas ofrecen una mayor tolerancia en caso de exposición accidental durante el periodo de cicatrización, y reducen el riesgo de infección secundaria. A pesar de que existe una amplia variedad de membranas reabsorbibles (diferentes materiales, diferentes tiempos de reabsorción, diferentes configuraciones, etc.) su principal inconveniente sigue siendo la falta de estabilidad dimensional. En consecuencia, parece fundamental tener en cuenta tanto las propiedades mecánicas del sustituto óseo como el método de fijación de la membrana.

Así pues, el uso de injertos óseos en bloque en lugar de sustitutos particulados supone, en teoría, una excelente alternativa en términos de estabilidad dimensional. A pesar de ello, el manejo clínico y una precisa adaptación al defecto óseo pueden ser difíciles (Zecha y cols. 2011; Benic y cols. 2016). Hace aproximadamente una década, en el contexto de la preservación alveolar post-extracción, se desarrolló un sustituto óseo en forma de bloque blando en que partículas de DBBM eran incorporadas a una matriz de colágeno (90% DBBM y 10% colágeno) (Nevins y cols. 2003; Jung y cols. 2004; Sculean y cols. 2005). Esta combinación aportaba al material suficiente flexibilidad y capacidad de compresión, lo cual mejoraba de manera sustancial el manejo clínico y la adaptación de dicho injerto al defecto óseo (Jung y cols. 2013b).

Finalmente, la estabilización del material de relleno con chinchetas o tornillos de fijación también se ha propuesto como una alternativa para mantener el espacio y evitar la movilidad del coágulo y del injerto (Carpio y cols. 2000).

De todos modos, y aunque su uso es habitual en la práctica diaria no existe un consenso ni evidencia científica al respecto. De hecho, generalmente la toma de decisión se acaba realizando de manera empírica en base a criterios anatómicos y la experiencia del propio cirujano.

En resumen, teniendo en cuenta la importancia para el éxito de la ROG de la estabilidad dimensional durante las maniobras de sutura, así como la falta de conocimiento sobre la influencia que ejercen las características de los materiales de regeneración y la manera en que son aplicados, se planteó la realización de la presente tesis doctoral.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

- **Objetivo 1:** Evaluar mediante tomografía computada de haz cónico (CBCT) el efecto de la sutura del colgajo mucoperióstico sobre la estabilidad dimensional de la regeneración ósea guiada (ROG) en defectos óseos periimplantarios reconstruidos mediante xenoinjertos óseos y membranas de colágeno.
- **Objetivo 2:** Evaluar mediante CBCT la influencia del uso de un xenoinjerto particulado o en bloque sólido en la estabilidad dimensional de la ROG durante la sutura del colgajo mucoperióstico en defectos óseos periimplantarios reconstruidos mediante xenoinjertos óseos y membranas de colágeno.
- **Objetivo 3:** Evaluar mediante CBCT la influencia del uso o no de chinchetas de fijación en la estabilidad dimensional de la ROG durante la sutura del colgajo mucoperióstico en defectos óseos periimplantarios reconstruidos mediante xenoinjertos óseos y membranas de colágeno.
- **Objetivo 4:** Evaluar mediante CBCT una nueva técnica para incrementar la estabilidad de la ROG durante la sutura del colgajo mucoperióstico en defectos periimplantarios reconstruidos mediante xenoinjertos óseos y membranas de colágeno.
- **Objetivo 5:** Analizar la fiabilidad y reproducibilidad del modelo de estudio in vitro en mandíbula de cerdo para el análisis de la estabilidad primaria de la ROG de dehiscencias óseas simultáneas a la colocación de un implante dental.

HIPÓTESIS

HIPÓTESIS

- **1 H₁**: Las maniobras de manipulación del colgajo durante la sutura de la herida quirúrgica causarán un desplazamiento significativo del material de regeneración.
- **1 H₀**: Las maniobras de manipulación del colgajo durante la sutura de la herida quirúrgica no causarán un desplazamiento significativo del material de regeneración.
- **2 H₁**: El uso de un xenoinjerto en bloque sólido aumentará de forma significativa la estabilidad dimensional de la ROG comparado con un xenoinjerto particulado.
- **2 H₀**: El uso de un xenoinjerto en bloque sólido no aumentará de forma significativa la estabilidad dimensional de la ROG comparado con un xenoinjerto particulado.
- **3 H₁**: El uso de chinchetas de fijación incrementará de forma significativa la estabilidad dimensional de la ROG comparado con no utilizarlos.
- **3 H₀**: El uso de chinchetas de fijación no incrementará de forma significativa la estabilidad dimensional de la ROG comparado con no utilizarlos.
- **4 H₁**: El uso de un xenoinjerto en bloque blando en forma de L aumentará de forma significativa la estabilidad dimensional en la parte más coronal de la ROG comparado con un xenoinjerto particulado.
- **4 H₀**: El uso de un xenoinjerto en bloque blando en forma de L no aumentará de forma significativa la estabilidad dimensional en la parte más coronal de la ROG comparado con un xenoinjerto particulado.
- **5 H₁**: El modelo de estudio in vitro en mandíbula de cerdo para el análisis de la estabilidad inmediata de la ROG no será reproducible y, por lo

tanto, se encontrarán diferencias estadísticamente significativas entre los resultados del mismo procedimiento realizado por duplicado.

- **5 H₀**: El modelo de estudio in vitro en mandíbula de cerdo para el análisis de la estabilidad inmediata de la ROG será reproducible y, por lo tanto, no se encontrarán diferencias estadísticamente significativas entre los resultados del mismo procedimiento realizado por duplicado.

APORTACIONES DEL DOCTORANDO

APORTACIONES DEL DOCTORANDO

Las aportaciones del doctorando en la confección de la presente tesis doctoral como compendio de artículos han sido las siguientes:

- Confección y diseño del modelo de estudio in vitro en mandíbula de cerdo para el análisis de la estabilidad dimensional primaria de la ROG.
- Preparación de las mandíbulas de cerdo para la colocación de implantes dentales con ROG simultánea.
- Colocación de los implantes y realización de las diferentes técnicas de ROG en estudio.
- Análisis radiográfico de las imágenes de tomografía computada de haz cónico previas y posteriores a la sutura de los colgajos.
- Colaboración en el análisis estadístico de los resultados.
- Redacción de los manuscritos publicados.
- Redacción de la presente tesis doctoral como compendio de artículos.

**PRESENTACIÓN
DE LOS ESTUDIOS REALIZADOS**

ESTUDIO I:

**INFLUENCIA DEL CIERRE DEL COLGAJO EN LA ESTABILIDAD DIMENSIONAL DE
DIFERENTES MATERIALES PARA LA ROG: ESTUDIO IN VITRO CON TOMOGRAFÍA
COMPUTADA DE HAZ CÓNICO**

ESTUDIO I

Influencia del cierre del colgajo en la estabilidad dimensional de diferentes materiales para la ROG: estudio in vitro con tomografía computada de haz cónico

Referencia completa del artículo:

Mir-Mari, J., Wui, H., Jung, R.E., Hämmerle, C.H. & Benic, G.I. (2016) Influence of blinded wound closure on the volume stability of different GBR materials: an in vitro cone-beam computed tomographic examination. *Clinical Oral Implants Research* 27 (2), 258-265.

Detalles del trabajo:

- Revista de publicación: Clinical Oral Implants Research
- Factor de Impacto de la revista: 3,464.
- ISI Journal Citation Reports © Ranking: 2015: 7/89 (Dentistry Oral Surgery & Medicine); 11/76 (Engineering Biomedical)
- Fecha de aceptación: 4 Marzo del 2015
- Fecha publicación online: 9 de Abril del 2015
- Fecha de asignación de volumen: 24 de Enero del 2016
- DOI: 10.1111/clr.12590
- Autores: Mir-Mari, Javier¹; Wui, Hu²; Jung, Ronald E.³; Hämmerle, Christoph H.F.³; Benic, Goran I.³
- Información sobre los autores:
 - ¹Unidad de Cirugía Bucal e Implantología, Facultad de Odontología, Universidad de Barcelona, España
 - ²Centro de Implantología, Hospital y Escuela de Estomatología, Universidad de Pequín, Pequín, China.
 - ³Clínica de Prótesis Fija y Removible y Ciencias de los Materiales Dentales, Centro de Medicina Dental, Universidad de Zúrich, Zúrich, Suiza.

MATERIAL Y MÉTODOS

Modelo in vitro

Se obtuvieron 20 hemi-mandíbulas de cerdos de 5 meses de edad (**Figuras 1a** y **1b**). Se llevaron a cabo incisiones crestales en mesial del segundo premolar y una descarga vertical a nivel disto-vestibular del segundo premolar. Se elevaron colgajos mucoperiósticos y se realizó la odontosección y extracción de la raíz mesial del segundo premolar (**Figura 1c**). Una vez hecho esto, mediante el uso de fresas cilíndricas de carburo de tungsteno se crearon 20 defectos en caja, uno por cada alveolo post-extracción y hemi-mandíbula. El tamaño de los defectos fue de 8 mm mesio-distalmente, 3 mm vestibulo-lingualmente y 6 mm en dirección apico-coronal. Para asegurar la estandarización de todos los defectos se utilizó una guía metálica como referencia (**Figura 1d**). Un implante de titanio (OsseoSpeed™ S, ASTRA TECH Implant System, DENTSPLY Implants, Mannheim, Germany) de 8 mm de largo por 4 mm de diámetro se colocó en cada defecto en una posición equidistante de la pared mesial y distal y apoyado sobre la pared lingual. Vestibulo-lingualmente, la superficie del implante quedó colocada 1 mm por dentro del nivel de las paredes óseas mesial, distal y apical. Verticalmente, el implante se colocó yuxtaóseo en relación a la cortical lingual (**Figuras 1e** y **1f**).

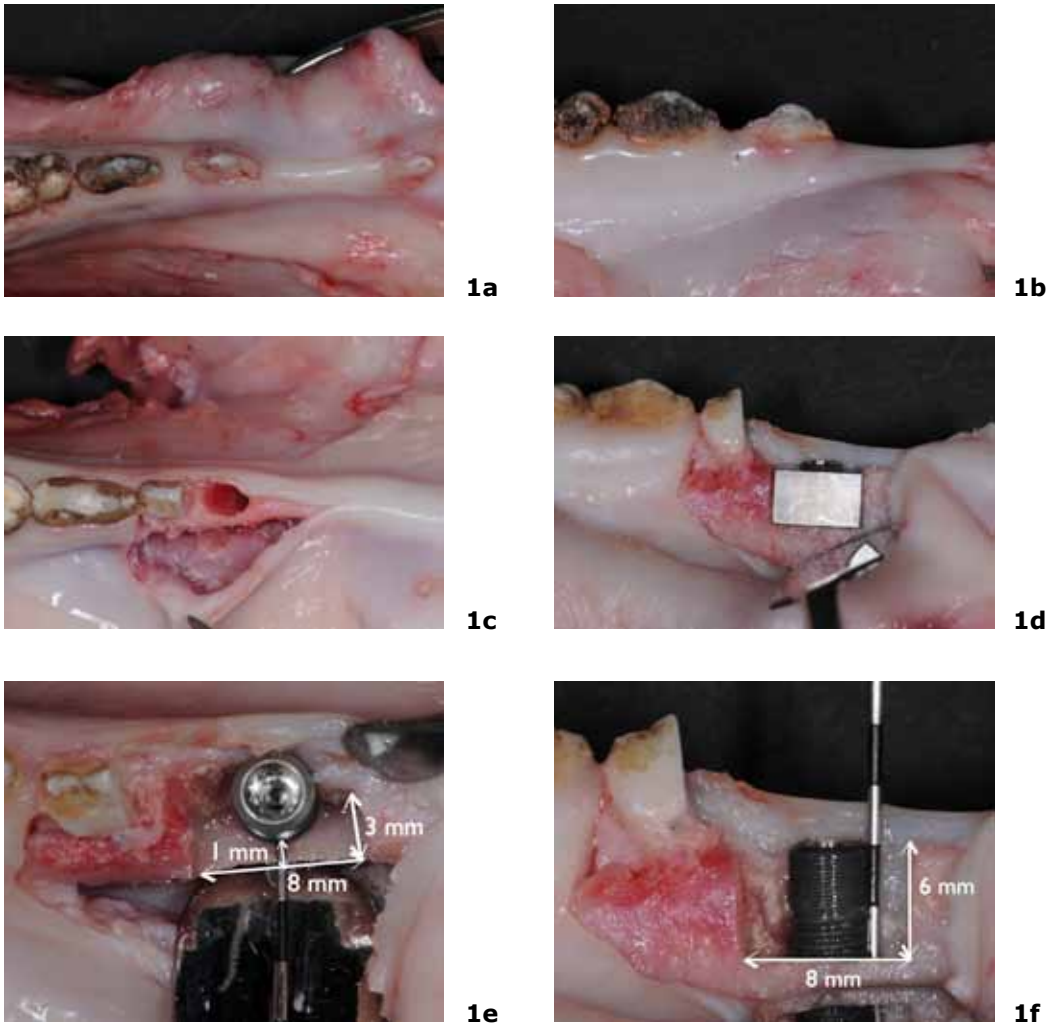


Figura 1. Descripción del modelo de estudio in vitro: vista oclusal (a) y vestibular (b) de la zona operatoria; (c) levantamiento del colgajo mucoperióstico con una descarga distal y la odontosección de la raíz del segundo premolar; (d) guía metálica para asegurar la estandarización de los defectos periimplantarios; vista oclusal (e) y vestibular (f) del defecto óseo periimplantario y sus medidas (6 x 8 x 3 mm).

ROG y cierre del colgajo

Antes de llevar a cabo la ROG, los sustitutos óseos se humedecieron con una solución acuosa al 50% de un contraste radio-opaco medio (Gastrografin®, Bayer, Zúrich, Suiza).

Cada defecto óseo (n=20) fue utilizado 3 veces, una vez para cada técnica de ROG en estudio (Particulado, Particulado + Chinchetas (I) y Bloque sólido). La secuencia de aplicación de las distintas técnicas se asignó de forma aleatoria.

Las siguientes modalidades de ROG fueron analizadas (**Figura 2**):

- **Particulado**: Hueso de origen bovino desproteínizado (DBBM) en forma particulada (Bio-Oss® granules 0.25-1 mm, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Suiza) + membrana de colágeno (Bio-Gide®, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Suiza) (n = 20).
- **Particulado + Chinchetas (I)**: DBBM particulado (Bio-Oss® granules 0.25-1 mm, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Suiza) + membrana de colágeno (Bio-Gide®, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Suiza) + 2 chinchetas de fijación de titanio (Frios®, DENTSPLY Implants) (n = 20).
- **Bloque sólido**: DBBM en bloque sólido (Bio-Oss® block, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Suiza) + membrana de colágeno (Bio-Gide®, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Suiza) (n = 20).

La estandarización del volumen aumentado entre las muestras y los diferentes grupos de estudio se aseguró por medio de una guía de silicona. Gracias a esta guía se colocaron los diferentes sustitutos óseos y se obtuvo una sobre-corrección del defecto de 1 mm, medido desde la pared ósea vestibular (**Figuras 2a y 2b**). En el caso del grupo Bloque sólido, se utilizaron bloques de DBBM que fueron tallados y recortados con fresas cilíndricas para adaptarse a la forma del defecto. Posteriormente, se aplicó una membrana reabsorbible de colágeno

que cubría el defecto óseo unos 2 mm en todas sus direcciones. En el grupo Particulado + Chinchetas (I) se colocaron 2 chinchetas de fijación de titanio 1 mm apicales al límite inferior de la pared vestibular del defecto con el objetivo de estabilizar la membrana de colágeno (**Figura 2c y 2d**).

Por último, antes de suturar se realizó una incisión relajadora en el periostio a nivel del fondo de vestíbulo para favorecer el cierre sin tensión. Los colgajos fueron suturados con una sutura monofilamento de poliamida (Dafilon® 5-0, B. Braun Medical AG, Sempach, Suiza). Uno de los operadores, al que no se había informado de la modalidad de tratamiento aplicado, suturó todos los colgajos de manera estandarizada (un punto colchonero horizontal y cuatro puntos simples) (**Figuras 2e y 2f**).

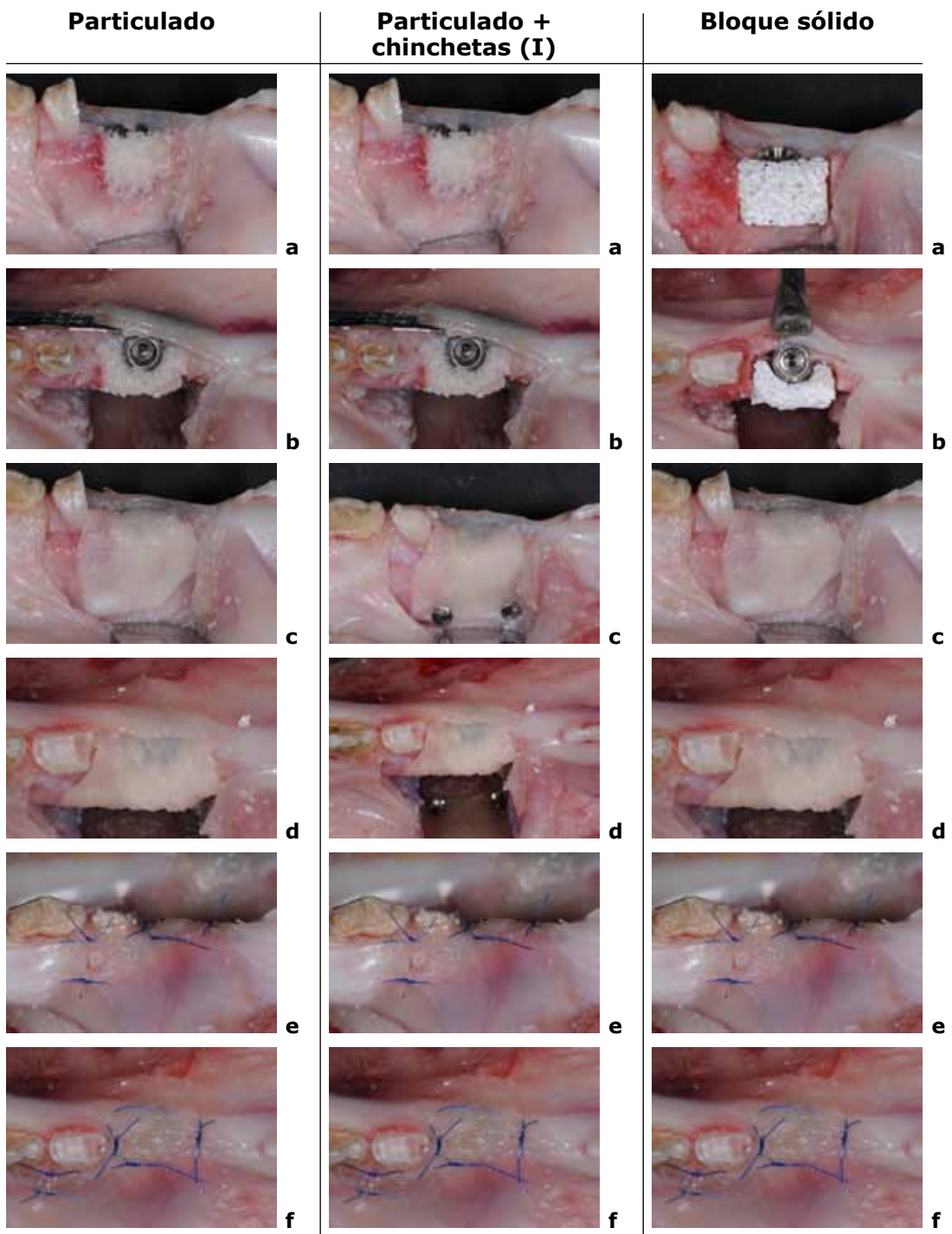


Figura 2. Descripción de los tres grupos de estudio y la secuencia de ROG: (a y b) vistas vestibular y oclusal del xenoinjerto particulado, para los grupos Particulado y Particulado + Chinchetas (I), y xenoinjerto en bloque, para el grupo Bloque sólido; (c y d) aplicación de la membrana de colágeno. Fijación de la membrana con chinchetas en el grupo Particulado + Chinchetas (I); (e y f) vistas vestibular y oclusal de la sutura y cierre de los colgajos mucoperiósticos.

Entre la aplicación de una técnica de ROG y otra en el mismo defecto se retiraron las suturas, la membrana, las chinchetas de fijación (si procedía) y el sustituto óseo. Una vez hecho esto, el defecto experimental fue lavado con una solución de suero salino al 0,9% antes de iniciar el siguiente procedimiento.

Los procedimientos quirúrgicos fueron llevados a cabo por 2 cirujanos. El primero de ellos creó los defectos periimplantarios estandarizados y realizó la ROG. Con el objetivo de eliminar el sesgo del operador, un segundo clínico suturó todos los colgajos. A este cirujano no se le informó ni de la modalidad de regeneración (Particulado, Particulado + Chinchetas (I) o Bloque sólido), ni del objetivo del estudio.

Tomografías computadas de haz cónico (CBCT)

Se llevaron a cabo tomografías computadas de haz cónico (I-Cat®,KaVo Dental GmbH, Biberach, Alemania) antes e inmediatamente después de suturar el colgajo mucoperióstico. Para posicionar las mandíbulas de cerdo se utilizó una bandeja y se dispuso el plano oclusal paralelo al suelo. A su vez, gracias a la utilización de los láseres de referencia del aparato, las mandíbulas se situaron en el centro del campo de visión (FOV). Los parámetros técnicos de las tomografías fueron los siguientes: un voltaje de aceleración de 120Kv, una corriente de 5mA, un diámetro de FOV de 16 cm, una altura de FOV de 6 cm, 600 proyecciones, una rotación de 360°, un tamaño de voxel de 0,25mm y un tiempo de escaneado de 14,7 segundos (Benic y cols. 2013).

Análisis de las imágenes de tomografía computada de haz cónico

Las tomografías en formato DICOM fueron evaluadas mediante el software de análisis de imagen OsiriX™ (OsiriX v.4.0 32-bit, Pixmeo SARL, Bernex, Suiza). Para la visualización de las imágenes se utilizó el modo "Full dynamic" del citado software con una configuración de nivel de pantalla de 3084 y un ancho

de pantalla de 8168. Para realizar las mediciones se utilizaron imágenes parasagitales que cortaban el eje central del implante y que eran perpendiculares a la cresta ósea. La panorámica mandibular se utilizó como referencia y las imágenes transversales perpendiculares al eje del implante y a la cresta ósea se utilizaron como referencia.

El grosor en sentido horizontal (HT) de la zona aumentada (suma del grosor del sustituto óseo y la membrana) fue medido a la altura del cuello del implante (HT_{0mm}) y a 1, 2, 3, 4 y 5 mm (HT_{1mm} - HT_{5mm}) apicalmente (**Figura 3**). Con el objetivo de asegurar la reproducibilidad de las mediciones, se imprimió una plantilla de acetato transparente con las 6 marcas correspondientes a cada altura de referencia (HT_{0mm} - HT_{5mm}) y el dibujo del implante dental. Esta plantilla se colocó sobre la pantalla del ordenador y sirvió para ajustar la posición y el tamaño de la imagen a evaluar (Benic y cols. 2013).

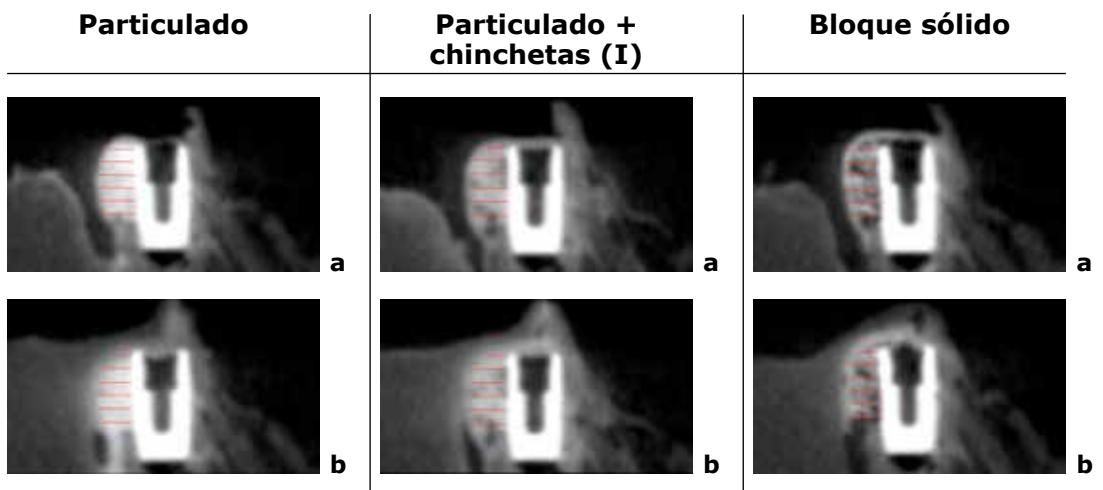


Figura 3. Cortes tomográficos vestibulo-linguales con las medidas del grosor horizontal de la zona aumentada a sus diferentes alturas en sentido apico-coronal ($HT_{0mm} - HT_{5mm}$). Imágenes de las mediciones antes (a) y después (b) de suturar para los 3 grupos de estudio.

Con el propósito de evaluar el ajuste y la adaptación del sustituto óseo al defecto se analizaron la presencia de espacios vacíos en la zona rellenada. Estos espacios vacíos fueron definidos como zonas radiotransparentes dentro de la región aumentada con un diámetro mayor o igual a 0,5 milímetros. Un investigador calibrado realizó todas las mediciones de las CBCTs.

Estudio de los datos

La variable principal del estudio fue el cambio de HT durante la sutura del colgajo mucoperióstico. Este cambio fue calculado como valor absoluto (milímetros) y como valor relativo (%) (SPSS version 20, IBM, Armonk, USA). La unidad de estudio fue el defecto periimplantario. Mediante el uso del software G*Power (Faul y cols. 2007; Faul y cols. 2009) se llevó a cabo un cálculo muestral para una ANOVA de medidas repetidas entre factores, con un tamaño del efecto de 0,5, $\alpha = 0.05$ y una Potencia = 0.95. Este cálculo arrojó una muestra necesaria de 16 defectos. Finalmente, se prepararon 20 defectos que fueron tratados con cada una de las tres opciones de tratamiento en estudio.

Se realizó una estadística descriptiva para todos los parámetros. En el caso de parámetros continuos, la distribución de los datos se representó mediante gráficos de barras con error y diagramas de caja. Los datos se expresaron mediante medias, desviación estándar e intervalos de confianza con el 95% (IC). La normalidad de la muestra fue evaluada mediante los tests de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk. Todos los resultados confirmaron la normalidad, a excepción de los valores HT_{5mm} en el grupo Bloque sólido. Para las variables discretas, se calcularon los valores absolutos y frecuencias relativas.

Los test de ANOVA para medidas repetidas se utilizaron para analizar las diferencias de HT antes de suturar y las diferencias en el cambio de HT entre los distintos grupos de estudio. En los casos en que el test de Mauchly descartó la esfericidad, se aplicó la corrección de Greenhouse-Geisser. Aquellos resultados con p-valores $\leq 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos. En los casos en que se observó una distribución no compatible con la normalidad de la muestra, se aplicó el test de Wilcoxon con la corrección de Bonferroni para evaluar las diferencias entre los distintos tratamientos. Aquellos resultados con p-valores $\leq 0,05/3 = 0,016$ fueron considerados estadísticamente significativos.

Con el objetivo de confirmar la fiabilidad intra-observador, dos semanas después del análisis de los CBCT, se repitieron las mediciones de 10 casos seleccionados de forma aleatoria. El coeficiente de correlación intraclase para $HT_{0mm} - HT_{5mm}$ osciló entre el 0,973 y el 0,989 (IC 95%: 0,932 - 0,996), lo que indicó una concordancia intra-examinador muy alta.

RESULTADOS

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los diferentes grupos en HT antes de suturar ($p = 0.276$) (**Tabla 1**). La sutura del colgajo mucoperióstico causó un cambio estadísticamente significativo en HT ($p = 0.001$) (**Tabla 2**). Las diferencias en el cambio del grosor horizontal (HT) entre los diferentes grupos de ROG alcanzaron la significación estadística ($p < 0.001$) (**Tabla 2**).

Los resultados de HT antes y después de suturar, así como el cambio en HT para los diferentes grupos de ROG, se pueden ver en las **Tablas 3 y 4** y las **Figuras 4 y 5**. La pérdida de grosor a nivel del cuello del implante (HT_{0mm}) fue del $42,8\% \pm 17,9\%$ (DS) para el grupo Particulado, del $22,9\% \pm 21,2\%$ (DS) para Particulado + Chinchetas (I) y del $20,2\% \pm 18,9\%$ (DS) para el grupo Bloque sólido. Por su parte, la reducción de HT a nivel de HT_{1mm} fue del $23,4\% \pm 11,9\%$ (DS) para el grupo Particulado, del $6,9\% \pm 12,5\%$ (SD) para el grupo Particulado + Chinchetas (I) y del $10,8\% \pm 13,2\%$ (SD) para el grupo Bloque sólido. La reducción de HT_{0mm} y HT_{1mm} fue estadísticamente significativa en todos los grupos ($p \leq 0,05$). En cambio, la reducción de HT_{2mm} fue significativa para el grupo Particulado y el grupo Bloque sólido ($p \leq 0,05$), pero no para el grupo Particulado + Chinchetas (I) ($p > 0,05$). Por último, la reducción de HT_{3mm} sólo fue estadísticamente significativa para el grupo Particulado ($p \leq 0,05$) (**Tabla 3 y Figura 4**).

En la comparación entre tratamientos, se observaron diferencias significativas entre Particulado y Particulado + Chinchetas (I) y entre Particulado y Bloque sólido a nivel de HT_{0mm} , HT_{1mm} , HT_{2mm} y HT_{3mm} ($p \leq 0,05$). En cambio, no se detectaron diferencias significativas entre Particulado + Chinchetas (I) y Bloque sólido ($p > 0,05$) (**Tabla 4 y Figura 5**).

Factor(s)	Esfericidad Mauchly	F	gl	p-valor*
(1) Modalidad de tratamiento[§]	0.829	1.153	2	0.328
(2) Nivel apico-coronal[‡]	< 0.001	41.108	1.749	< 0.001 [†]
(1) x (2)	< 0.001	1.335	2.390	0.276

(1), Modalidad de tratamiento; (2), Nivel apico-coronal; x, interacción entre los factores; §, procedimientos de ROG; ‡, alturas de 0-5 mm desde el cuello del implante en dirección apical; F, distribución de Fischer; gl, grados de libertad; *, resultados de la ANOVA de medidas repetidas con la corrección de Greenhouse-Geisser; †, estadísticamente significativo

Tabla 1. Resultados del análisis de la ANOVA de medidas repetidas de dos factores para el grosor horizontal (HT) en la zona aumentada antes de suturar (valor basal).

Factor(s)	Esfericidad Mauchly	F	gl	p-valor*
(1) Modalidad de tratamiento[§]	0.674	1.059	2	0.358
(2) Nivel apico-coronal[‡]	< 0.001	68.531	1.397	< 0.001 [†]
(3) Sutura	1	16.124	1	0.001 [†]
(1) x (2)	< 0.001	1.826	3	< 0.001 [†]
(1) x (3)	0.764	10.398	2	< 0.001 [†]
(2) x (3)	0.003	24.780	2.219	< 0.001 [†]
(1) x (2) x (3)	< 0.001	1.755	2.794	0.172

(1), Modalidad de tratamiento; (2), Nivel apico-coronal; (3) Sutura; x, interacción entre los factores; §, procedimientos de ROG; ‡, alturas de 0-5 mm desde el cuello del implante en dirección apical; F, distribución de Fischer; gl, grados de libertad; *, resultados de la ANOVA de medidas repetidas con la corrección de Greenhouse-Geisser; †, estadísticamente significativo

Tabla 2. Resultados del análisis de la ANOVA de medidas repetidas de dos y tres factores para el grosor horizontal (HT) en la zona aumentada.

Los resultados en relación a la presencia de espacios vacíos en la zona rellenada se pueden ver en la **Tabla 5**. La mayoría de estos espacios vacíos se detectaron en el grupo Bloque sólido a una altura entre 3 y 4 mm apicalmente al cuello del implante (**Tabla 5**).

Modalidad de tratamiento	Variable	Antes de suturar (mm)		Después de suturar (mm)	Cambio(mm)	Cambio (%)	p-valor*
		Media ± DS [IC 95%]	Media ± DS [IC 95%]				
(a) Particulado (n=20)	HT _{0mm}	2.5 ± 0.6 [2.2; 2.8]	1.4 ± 0.5 [1.1; 1.6]	-1.1 ± 0.5 [-1.3; -0.8]	-42.8 ± 17.9 [-51.2; -34.4]	< 0.001†	
	HT _{1mm}	3.0 ± 0.5 [2.8; 3.3]	2.3 ± 0.5 [2.1; 2.6]	-0.7 ± 0.4 [-0.9; -0.5]	-23.4 ± 11.9 [-28.9; -17.8]	< 0.001†	
	HT _{2mm}	3.2 ± 0.5 [3.0; 3.5]	2.8 ± 0.5 [2.6; 3.1]	-0.4 ± 0.4 [-0.6; -0.2]	-13.1 ± 12.1 [-18.8; -7.5]	< 0.001†	
	HT _{3mm}	3.3 ± 0.5 [3.1; 3.5]	3.0 ± 0.6 [2.8; 3.3]	-0.3 ± 0.4 [-0.5; -0.1]	-7.8 ± 12.4 [-13.6; -1.9]	0.012†	
	HT _{4mm}	3.2 ± 0.6 [2.9; 3.5]	3.0 ± 0.7 [2.7; 3.3]	-0.2 ± 0.5 [-0.4; 0.0]	-6.6 ± 14.3 [-13.2; 0.1]	0.066	
HT _{5mm}	2.8 ± 0.8 [2.4; 3.2]	2.8 ± 0.9 [2.4; 3.2]	-0.0 ± 0.6 [-0.3; 0.3]	2.0 ± 34.3 [-14.0; 18.1]	0.881		
(b) Particulado + Chinchetas (I) (n=20)	HT _{0mm}	2.1 ± 0.5 [1.9; 2.4]	1.6 ± 0.6 [1.4; 1.9]	-0.5 ± 0.5 [-0.7; -0.3]	-22.9 ± 21.2 [-32.8; -13.0]	< 0.001†	
	HT _{1mm}	2.8 ± 0.4 [2.6; 3.0]	2.6 ± 0.3 [2.4; 2.7]	-0.2 ± 0.4 [-0.4; -0.1]	-6.9 ± 12.5 [-12.8; -1.0]	0.012†	
	HT _{2mm}	3.1 ± 0.4 [2.9; 3.3]	3.0 ± 0.3 [2.9; 3.1]	-0.1 ± 0.3 [-0.2; 0.1]	-0.9 ± 10.5 [-5.8; 4.0]	0.440	
	HT _{3mm}	3.1 ± 0.4 [2.9; 3.3]	3.2 ± 0.3 [3.1; 3.3]	0.1 ± 0.3 [-0.1; 0.2]	3.3 ± 11.0 [-1.8; 8.5]	0.316	
	HT _{4mm}	3.1 ± 0.5 [2.8; 3.3]	3.1 ± 0.5 [2.9; 3.3]	0.0 ± 0.4 [-0.1; 0.2]	2.2 ± 12.0 [-3.5; 7.8]	0.586	
HT _{5mm}	2.8 ± 0.6 [2.6; 3.1]	2.9 ± 0.6 [2.6; 3.1]	0.0 ± 0.3 [-0.1; 0.2]	1.6 ± 12.1 [-4.1; 7.3]	0.817		
(c) Bloque sólido (n=18)‡	HT _{0mm}	2.5 ± 0.6 [2.2; 2.8]	1.9 ± 0.5 [1.7; 2.2]	-0.6 ± 0.5 [-0.8; -0.3]	-20.2 ± 18.9 [-29.6; -10.8]	< 0.001†	
	HT _{1mm}	2.9 ± 0.4 [2.8; 3.1]	2.6 ± 0.4 [2.4; 2.8]	-0.3 ± 0.4 [-0.5; -0.1]	-10.8 ± 13.2 [-17.4; -4.3]	0.002†	
	HT _{2mm}	3.1 ± 0.3 [3.0; 3.3]	3.0 ± 0.4 [2.8; 3.1]	-0.2 ± 0.4 [-0.4; 0.0]	-5.3 ± 11.6 [-11.0; 0.5]	0.050†	
	HT _{3mm}	3.2 ± 0.3 [3.0; 3.4]	3.2 ± 0.3 [3.0; 3.4]	-0.0 ± 0.3 [-0.2; 0.2]	-0.0 ± 9.8 [-4.8; 4.9]	0.856	
	HT _{4mm}	3.2 ± 0.4 [3.0; 3.4]	3.3 ± 0.3 [3.2; 3.4]	0.1 ± 0.3 [-0.1; 0.2]	3.1 ± 10.6 [-2.2; 8.3]	0.330	
HT _{5mm}	2.9 ± 0.9 [2.4; 3.3]	3.0 ± 0.8 [2.6; 3.4]	0.1 ± 1.1 [-0.4; 0.7]	27.2‡ ± 89.5 [-17.3; 71.7]	0.435‡		

n, número; HT_{xmm}, grosor horizontal de la zona rellenada medida a "x" mm apicales desde el cuello del implante; ‡, dos muestras del grupo Bloque sólido fueron excluidas debido a irregularidades en el contorno de la regeneración; DS, desviación estándar; IC 95%, intervalo de confianza al 95%; *, resultados de la ANOVA de medidas repetidas con la corrección de Greenhouse-Geisser; †, estadísticamente significativo; ‡, el valor relativo 27,2% está influenciado por un valor atípico. De hecho, si este valor atípico hubiera sido excluido de la muestra, el valor relativo del cambio de HT en HT_{5mm} para el grupo Bloque sólido sería del 11,0%; ‡, resultados del test no-paramétrico de Wilcoxon.

Tabla 3. Resultados del grosor horizontal (HT) de la zona aumentada y el cambio de HT a los diferentes niveles apico-coronales para los grupos (a) Particulado, (b) Particulado + Chinchetas (I) y (c) Bloque sólido.

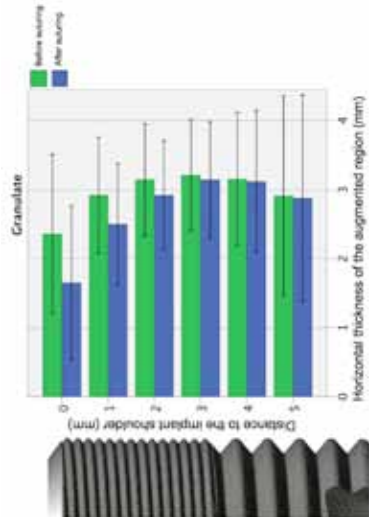


Figura 4a. Particulado

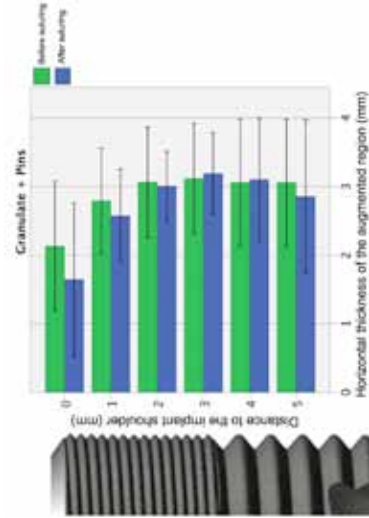


Figura 4b. Particulado + Chinchetas (I)

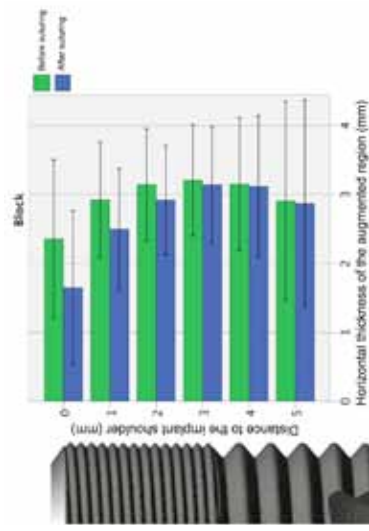


Figura 4c. Bloque sólido

Figura 4. Gráficos de barras para representar el grosor horizontal (HT) de la zona aumentada a sus diferentes alturas apico-coronales ($HT_{0mm} - HT_{5mm}$) antes (verde - Before suturing) y después (azul - After suturing) de suturar para los grupos (a) Particulado, (b) Particulado + Chinchetas (I) y (c) Bloque sólido. Las líneas de error representan ± 2 desviaciones estándar.

	Cambio (mm)			Cambio (%)			Análisis estadístico*
	Particulado (P)	Particulado + Chinchetas (I) (PC-I)	Bloque sólido (BS)	Particulado (P)	Particulado + Chinchetas (I) (PC-I)	Bloque sólido (BS)	
HT_{0mm}	-1.1 ± 0.5 [-1.3; -0.8]	-0.5 ± 0.4 [-0.7; -0.3]	-0.6 ± 0.5 [-0.8; -0.3]	-42.8 ± 17.9 [-51.2; -34.4]	-22.9 ± 21.2 [-32.8; -13.0]	-20.2 ± 18.9 [-29.6; -10.8]	P vs PC-I: p < 0.001† P vs B: p = 0.011† PC vs BS: p = 0.498
HT_{1mm}	-0.7 ± 0.4 [-0.9; -0.5]	-0.2 ± 0.4 [-0.4; -0.1]	-0.3 ± 0.4 [-0.5; -0.1]	-23.4 ± 11.9 [-28.9; -17.8]	-6.9 ± 12.5 [-12.8; -1.0]	-10.8 ± 13.2 [-17.4; -4.3]	P vs PC-I: p < 0.001† P vs B: p = 0.004† PC-I vs BS: p = 0.210
HT_{2mm}	-0.4 ± 0.4 [-0.6; -0.2]	-0.1 ± 0.3 [-0.2; 0.1]	-0.2 ± 0.4 [-0.4; 0.0]	-13.1 ± 12.1 [-18.8; -7.5]	-0.9 ± 10.5 [-5.8; 4.0]	-5.3 ± 11.6 [-11.0; 0.5]	P vs PC-I: p = 0.001† P vs BS: p = 0.008† PC-I vs BS: p = 0.216
HT_{3mm}	-0.3 ± 0.4 [-0.5; -0.1]	0.1 ± 0.3 [-0.1; 0.2]	0.0 ± 0.3 [-0.2; 0.2]	-7.8 ± 12.4 [-13.6; -1.9]	3.3 ± 11.0 [-1.8; 8.5]	0.0 ± 9.8 [-4.8; 4.9]	P vs PC-I: p = 0.007† P vs BS: p = 0.013† PC-I vs BS: p = 0.362
HT_{4mm}	-0.2 ± 0.5 [-0.4; 0.0]	0.0 ± 0.4 [-0.1; 0.2]	0.1 ± 0.3 [-0.1; 0.2]	-6.6 ± 14.3 [-13.2; 0.1]	2.2 ± 12.0 [-3.5; 7.8]	3.1 ± 10.6 [-2.2; 8.3]	P vs PC-I: p = 0.132 P vs BS: p = 0.034† PC-I vs BS: p = 0.913
HT_{5mm}	0.0 ± 0.6 [-0.3; 0.3]	0.0 ± 0.3 [-0.1; 0.2]	0.1 ± 1.1 [-0.4; 0.7]	-2.0 ± 34.3 [-14.0; 18.1]	1.6 ± 12.1 [-4.1; 7.3]	27.2 [♦] ± 89.5 [-17.3; 71.7]	P vs PC-I: p = 0.867 P vs BS: p = 0.862 PC-I vs BS: p = 0.760

HT_{xmm}, grosor horizontal de la zona rellena medida a "x" mm apicales desde el cuello del implante; DS, desviación estándar; IC 95%, intervalo de confianza al 95%; *, resultados de la ANOVA de medidas repetidas con la corrección de Greenhouse-Geisser; †, estadísticamente significativo; ♦, el valor relativo 27,2% está influenciado por un valor atípico. De hecho, si este valor atípico hubiera sido excluido de la muestra, el valor relativo del cambio de HT en HT_{5mm} para el grupo Bloque sólido sería del 11,0%; ♠, resultados del test no-paramétrico de Wilcoxon.

Tabla 4. Resultados del cambio en el grosor horizontal de la zona aumentada para los diferentes grupos de estudio y los resultados de la ANOVA de medidas repetidas.

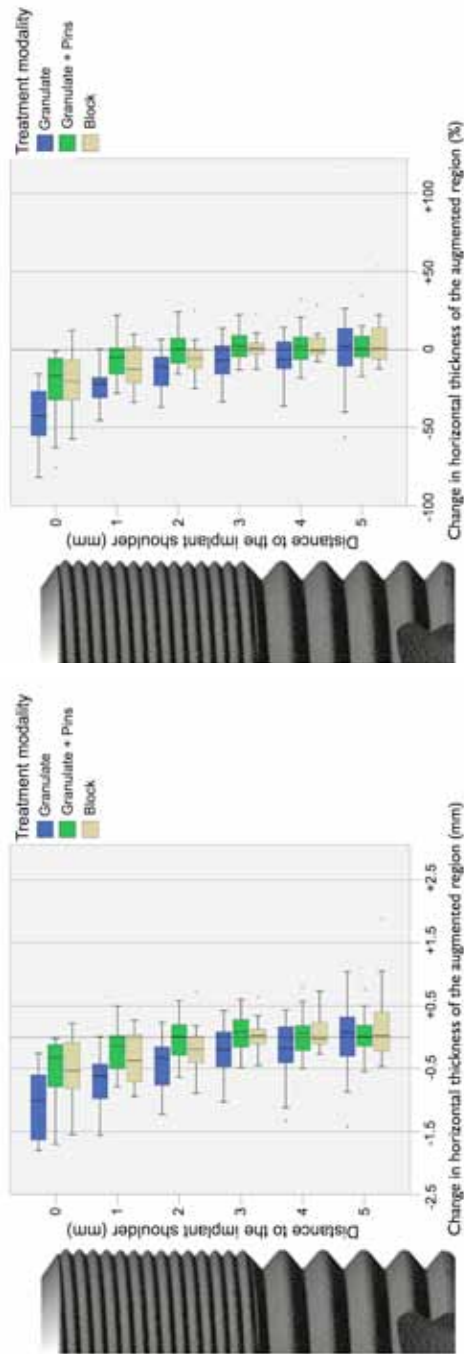


Figura 5a. Cambio en milímetros (mm)

Figura 5b. Cambio en porcentaje (%)

Figura 5. Gráficos de caja para representar los cambios en el grosor horizontal (HT) de la zona aumentada durante la sutura para los tres grupos de estudio (azul – Particulado; verde – Particulado + Chinchetas (I); y amarillo – Bloque sólido) expresados en (a) mm y (b) en %. El símbolo ◦ en los gráficos representa valores atípicos. Un valor atípico en el grupo Bloque sólido al nivel HT_{5mm} no fue representado.

Altura apico-coronal*	Particulado		Particulado + Chinchetas (I)		Bloque sólido	
	Antes de suturar	Después de suturar	Antes de suturar	Después de suturar	Antes de suturar	Después de suturar
0mm	0 % (0/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)
1mm	5 % (1/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)
2mm	0 % (0/20)	0 % (0/20)	5 % (1/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)	5 % (1/20)
3mm	10 % (2/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)	20 % (4/20)	35 % (7/20)
4mm	5 % (1/20)	0 % (0/20)	5 % (1/20)	0 % (0/20)	15 % (3/20)	25 % (5/20)
5mm	0 % (0/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)	0 % (0/20)

* , distancia en vertical medida desde el cuello del implante en dirección apical y paralela al implante dental.

Tabla 5. Frecuencia de aparición en las imágenes de CBCT de espacios vacíos ($\geq 0,5$ mm) dentro de la zona aumentada.

AGRADECIMIENTOS

Los investigadores agradecen a la Dra. Malgorzata Roos (Ph.D.) (Departamento de Bioestadística, Universidad de Zúrich, Zúrich, Suiza), Dra. Caroline Lustenberger ("Clínica de Prótesis Fija y Removible y Ciencias de los Materiales Dentales", Centro de Medicina Dental, Universidad de Zúrich, Zúrich, Suiza) y al Dr. Eduard Valmaseda-Castellón (Unidad de Cirugía Oral e Implantología, Universidad de Barcelona, España) por su ayuda con el análisis e interpretación de los datos. Este estudio fue llevado a cabo gracias al soporte de la "Clínica de Prótesis Fija y Removible y Ciencias de los Materiales Dentales", Centro de Medicina Dental, Universidad de Zúrich, Zúrich, Suiza. Los implantes fueron cedidos amablemente por DENTSPLY Implants, Mannheim, Alemania.

ESTUDIO II:

INFLUENCIA DEL CIERRE DEL COLGAJO EN LA ESTABILIDAD DIMENSIONAL DE LA ROG MEDIANTE MATERIALES PARTICULADOS O NO PARTICULADOS: ESTUDIO IN VITRO MEDIANTE TOMOGRAFÍA COMPUTADA DE HAZ CÓNICO. PARTE II.

ESTUDIO II

Influencia del cierre del colgajo en la estabilidad dimensional de la ROG mediante materiales particulados o no particulados: estudio in vitro mediante tomografía computada de haz cónico. Parte II.

Referencia completa del artículo:

Mir-Mari, J., Benic, G.I., Valmaseda-Castellón, E., Hämmerle, C.H. & Jung, R.E. (2016) Influence of wound closure on the volume stability of particulate and non particulate GBR materials: an in vitro cone-beam computed tomographic examination. Part II. *Clinical Oral Implants Research* 00, 1-9 [Epub ahead of print]

Detalles del trabajo:

- Revista de publicación: Clinical Oral Implants Research
- Factor de Impacto de la revista: 3,464.
- ISI Journal Citation Reports © Ranking: 2015: 7/89 (Dentistry Oral Surgery & Medicine); 11/76 (Engineering Biomedical)
- Fecha de aceptación: 6 Marzo del 2016
- Fecha publicación online: 6 de Abril del 2016
- Fecha de asignación de volumen: pendiente de asignación
- DOI: 10.1111/clr.12845
- Autores: Mir-Mari, Javier¹; Benic, Goran I.²; Valmaseda-Castellón, Eduard¹; Hämmerle, Christoph H.F.²; Jung, Ronald E.²
- Información sobre los autores:
 - ¹Unidad de Cirugía Bucal e Implantología, Facultad de Odontología, Universidad de Barcelona, España
 - ²Clínica de Prótesis Fija y Removible y Ciencias de los Materiales Dentales, Centro de Medicina Dental, Universidad de Zúrich, Zúrich, Suiza.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente estudio in vitro se diseñó como la segunda parte de una publicación previa (Mir-Mari y cols. 2016a). Además, también sirvió como validación del método de estudio utilizado previamente.

Modelo in vitro

Se obtuvieron 20 hemi-mandíbulas de cerdos de 5 meses de edad. Se llevaron a cabo incisiones crestales en mesial del segundo premolar y una descarga vertical en la encía disto-vestibular del segundo premolar. Se elevaron colgajos mucoperiosticos y se crearon 20 defectos en caja. El tamaño de los defectos fue de 8 mm mesio-distalmente, 3 mm vestíbulo-lingualmente y 6 mm en dirección apico-coronal (**Figura 6**). En la primera parte de este proyecto de investigación se puede leer una descripción más detallada del modelo in vitro (Mir-Mari y cols. 2016a) (**Figura 1**).

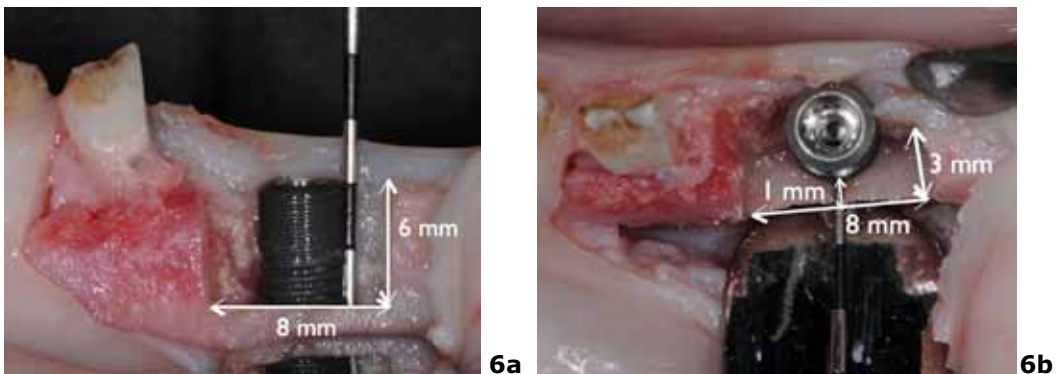


Figura 6. Descripción del defecto óseo periimplantario experimental en vista (a) vestibular y (b) oclusal.

ROG y cierre del colgajo

Una nueva técnica de regeneración se propuso con el objetivo de incrementar la estabilidad de la ROG a nivel del cuello del implante. Para poder valorar dicha mejora, la nueva técnica fue comparada con el uso de un sustituto óseo particulado de forma aislada, cubierto por una membrana de colágeno

reabsorbible y fijada con chinchetas de titanio. Por lo tanto, las siguientes dos modalidades de ROG fueron asignadas de forma aleatoria (**Figura 7**):

- **Particulado + Chinchetas (II)**¹ (control): DBBM particulado (Bio-Oss® granules 0.25-1 mm, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Suiza) + membrana de colágeno (Bio-Gide®, GeistlichPharma AG, Wolhusen, Suiza) + dos chinchetas de fijación de titanio (Frios® membrane tacks, DENTSPLY Implants, Mannheim, Alemania) (n = 20).
- **Bloque blando-L** (test): DBBM particulado (Bio-Oss® granules 0.25-1 mm, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Suiza) + Bloque blando (90% de gránulos de DBBM estabilizados con un 10% de colágeno porcino) en forma de "L" (Bio-Oss®collagen, 250 mg, 0.4-0.5 cc, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Suiza) + membrana de colágeno (Bio-Gide®, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Suiza) + dos chinchetas de fijación de titanio (Frios® membrane tacks, DENTSPLY Implants, Mannheim, Alemania) (n = 20).

Cada defecto óseo (n=20) fue utilizado dos veces, una para cada modalidad de regeneración (control y test). El orden de aplicación de las diferentes estrategias de ROG se asignó de forma aleatoria. Antes de llevar a cabo la ROG, los sustitutos óseos se humedecieron con una solución acuosa al 50% de un contraste radio-opaco medio (Gastrografin®, Bayer, Zurich, Suiza).

La regeneración ósea en el grupo control (Particulado + Chinchetas (II)) fue llevada a cabo siguiendo exactamente el mismo protocolo descrito previamente (Mir-Mari y cols. 2016a). El sustituto óseo particulado fue aplicado sobre la superficie vestibular del implante y la cresta alveolar, con la intención de

¹ El grupo Particulado + Chinchetas (II) consiste en una repetición exacta del mismo procedimiento realizado en el grupo de estudio Particulado + Chinchetas (I) de la primera parte de la presente tesis doctoral. El objetivo de dicha repetición fue comparar la validez del modelo de estudio in vitro en mandíbula de cerdo para el estudio de la estabilidad primaria de la ROG en defectos periimplantarios.

conseguir un milímetro de sobre-contorneado (**Figura 7a**). Una sobre-corrección estandarizada fue garantizada mediante el uso de una guía de silicona previamente preparada. A continuación, se colocó una membrana de colágeno que cubría el sustituto óseo y las paredes del defecto por al menos 2 mm. Finalmente, la membrana fue estabilizada mediante el uso de 2 chinchetas de titanio colocadas 1 mm apicalmente a las paredes del defecto (**Figura 7b**).

En el caso del grupo test (Bloque blando-L), el sustituto óseo particulado fue aplicado sobre la superficie vestibular del implante y la cresta ósea exactamente igual que en el grupo control (**Figura 7d**). Un bloque blando rectangular de DBBM fue preparado extra-oralmente y cortado en forma de L con una hoja de bisturí del número 15. Se empleó una sonda periodontal milimetrada para asegurar un grosor homogéneo del bloque de 3 mm en la porción oclusal de la L. Por su parte, el grosor de la porción vestibular fue de 2 milímetros (**Figura 7e**). A continuación, el bloque blando en forma de L fue aplicado encima del sustituto óseo particulado, y se procuró conseguir una sobre-corrección del defecto de 3 mm, tanto vertical como horizontalmente (**Figuras 7e, 7f y 7g**). A continuación, se aplicó una membrana de colágeno que cubría el defecto y las paredes óseas al menos 2 milímetros. Finalmente, la membrana fue estabilizada mediante dos chinchetas de titanio colocadas 1 mm apicalmente a las paredes óseas del defecto (**Figura 7h**).

Por último, antes de suturar se realizó una incisión relajadora en el periostio a nivel del fondo de vestíbulo para favorecer el cierre sin tensión. Los colgajos fueron suturados con una sutura monofilamento de poliamida (Dafilon® 5-0, B. Braun Medical AG, Sempach, Suiza). Uno de los operadores suturó todos los colgajos de manera estandarizada (un punto colchonero horizontal y cuatro puntos simples) (**Figuras 7c y 7i**).

Particulado + Chinchetas (II)

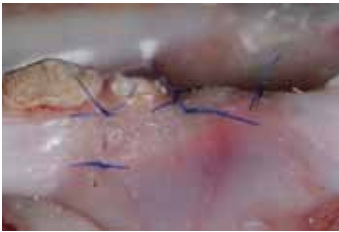
Bloque blando en L



7a



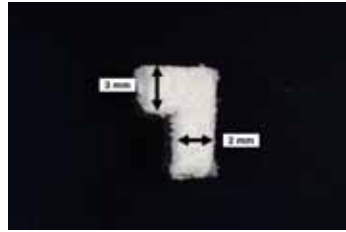
7b



7c



7d



7e



7f



7g



7h



7i

Figura 7. Descripción de los dos grupos de estudio y la secuencia de ROG:
 (a – c): Particulado + Chinchetas (II)
 (d – i): Bloque blando-L

Entre la aplicación de una técnica de ROG y otra en el mismo defecto se retiraron las suturas, la membrana, las chinchetas de fijación y el sustituto óseo. Una vez hecho esto, el defecto experimental fue lavado con una solución de suero salino al 0,9% antes de iniciar el siguiente procedimiento.

Con el objetivo de eliminar el sesgo del operador, las intervenciones quirúrgicas fueron llevadas a cabo por dos clínicos. El primer cirujano creó los defectos periimplantarios y llevó a cabo los procedimientos de ROG, mientras el segundo clínico se encargó de suturar todos los colgajos mucoperiosticos de la manera descrita anteriormente.

Tomografías computadas de haz cónico

Se llevaron a cabo tomografías computadas de haz cónico (I-Cat®, KaVo Dental GmbH, Biberach, Alemania) antes e inmediatamente después de suturar el colgajo mucoperiostico. Para posicionar las mandíbulas de cerdo se utilizó una bandeja colocando el plano oclusal paralelo al suelo. A su vez, gracias a la utilización de los láseres de referencia del aparato, las mandíbulas se situaron en el centro del campo de visión (FOV). Los parámetros técnicos de las tomografías fueron los siguientes: un voltaje de aceleración de 120Kv, una corriente de 5mA, un diámetro de FOV de 16 cm, una altura de FOV de 6 cm, 600 proyecciones, una rotación de 360°, un tamaño de voxel de 0,25mm y un tiempo de escaneado de 14,7 segundos (Benic y cols. 2013).

Análisis de las imágenes de tomografía computada de haz cónico

Las tomografías en formato DICOM fueron evaluadas mediante el software de análisis de imagen OsiriX™ (OsiriX v.4.0 32-bit, Pixmeo SARL, Bernex, Suiza). Para la visualización de las imágenes se utilizó el modo "Full dynamic" del citado software con una configuración de nivel de pantalla de 3084 y un ancho de pantalla de 8168. Para realizar las mediciones se utilizaron imágenes para-

sagitales que cortaban el eje central del implante y que eran perpendiculares a la cresta ósea. La panorámica mandibular se utilizó como referencia y las imágenes transversales perpendiculares al eje del implante y a la cresta ósea se utilizaron como referencia.

El grosor en sentido horizontal (HT) de la zona aumentada (suma del grosor del sustituto óseo y la membrana) fue medido a nivel del cuello del implante (HT_{0mm}) y a 1, 2, 3, 4 y 5 mm (HT_{1mm} - HT_{5mm}) apicalmente (**Figura 8**). Con el objetivo de asegurar la reproducibilidad de las mediciones, se imprimió una plantilla de acetato transparente con las 6 marcas correspondientes a cada altura de referencia (HT_{0mm} - HT_{5mm}) y el dibujo del implante dental. Esta plantilla se colocó sobre la pantalla del ordenador y sirvió para ajustar la posición y el tamaño de la imagen a evaluar (Benic y cols. 2013).

Con el propósito de describir la flexibilidad y la capacidad de compresión del grupo test, se registraron dos medidas adicionales: el grosor vertical (VT) y el grosor a 45 grados (45-T). El VT fue la distancia desde el cuello del implante hasta la parte más coronal del material de regeneración en sentido vertical, siguiendo el eje longitudinal del implante. En el caso de 45-T, el grosor fue medido desde el cuello del implante hasta el punto más coronal y vestibular de la regeneración en un ángulo de $+45^\circ$ en relación al eje longitudinal del implante (**Figuras 8a y 8b** del grupo Bloque blando en L).

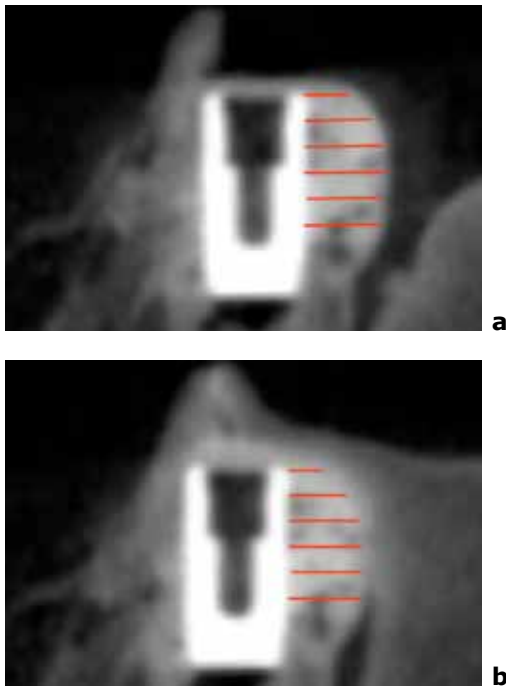
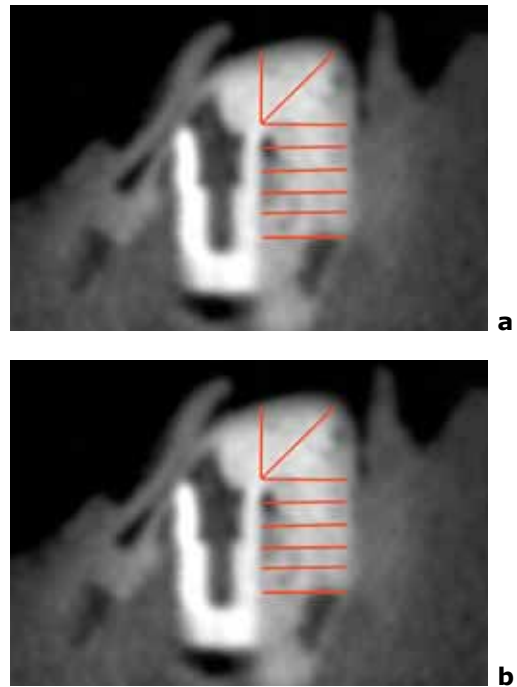
Particulado + Chinchetas (II)**Bloque blando en L**

Figura 8. Cortes tomográficos vestibulo-linguales con las medidas del grosor horizontal de la zona aumentada a sus diferentes alturas en sentido apico-coronal (HT_{0mm} - HT_{5mm} , VT y 45-T). Imágenes de las mediciones antes (a) y después (b) de suturar para los 2 grupos en estudio.

Por último, para evaluar el ajuste y la adaptación del sustituto óseo al defecto se analizó la presencia de espacios vacíos en la zona rellenada. Estos espacios vacíos fueron definidos como zonas radiotransparentes dentro de la región aumentada con un diámetro mayor o igual a 0,5 milímetros. Un investigador calibrado realizó todas las mediciones de los CBCTs.

Análisis estadístico

La variable principal del estudio fue el cambio de HT durante la sutura del colgajo mucoperióstico. Este cambio fue calculado como valor absoluto (milímetros) y como valor relativo (%) (SPSS version 20, IBM, Armonk, USA). La unidad de estudio fue el defecto peri-implantario. Mediante el uso del software G*Power

(Faul y cols. 2007; Faul y cols. 2009) se llevó a cabo un cálculo muestral para una ANOVA de medidas repetidas entre factores, con un tamaño del efecto de 0,5, $\alpha = 0.05$ y una Potencia = 0.95. Este cálculo arrojó una muestra necesaria de 16 defectos. Finalmente, se prepararon 20 defectos que fueron tratados con cada una de las dos opciones de tratamiento en estudio.

Se realizó una estadística descriptiva para todos los parámetros. En el caso de parámetros continuos, la distribución de los datos se representó mediante gráficos de barras con error y diagramas de caja. Los datos se expresaron mediante medias, desviación estándar e intervalos de confianza con el 95% (IC). La normalidad de la muestra fue evaluada mediante los tests de Kolmogorov-Smirnov con la corrección de Lilliefors y Shapiro-Wilk. Todos los resultados confirmaron la normalidad, a excepción de los valores de 45-T en el grupo test. Para las variables discretas, se calcularon los valores absolutos y frecuencias relativas.

Con el objetivo de evaluar la reproducibilidad del modelo de investigación in vitro, los valores de grosor horizontal (HT) antes, después de suturar y el cambio de HT del grupo "Particulado + Chinchetas (I)" del primer estudio (Mir-Mari y cols. 2016a) fueron comparados con el actual grupo control (Particulado + Chinchetas (II)), que había recibido exactamente el mismo protocolo de ROG.

Los test de ANOVA para medidas repetidas se utilizaron para analizar las diferencias de HT antes de suturar y las diferencias en el cambio de HT entre los distintos grupos de estudio. En los casos en que el test de Mauchly descartó la esfericidad, se aplicó la corrección de Greenhouse-Geisser. Aquellos resultados con p-valores $\leq 0,05$ fueron considerados estadísticamente significativos. La corrección de Bonferroni fue utilizada para los contrastes post-hoc en las ANOVAS de 2 y 3 factores. En los casos en que se observó una distribución no-normal de la muestra, se aplicó el test de Wilcoxon con la corrección de Bonferroni para

evaluar las diferencias entre los distintos tratamientos. Aquellos resultados con p-valores $\leq 0,05/3 = 0,016$ fueron considerados estadísticamente significativos.

Con el objetivo de confirmar la fiabilidad intra-observador, dos semanas después del análisis de los CBCT, se repitieron las mediciones de 10 casos seleccionados de forma aleatoria. El coeficiente de correlación intraclass para $HT_{0mm} - HT_{5mm}$, VT y 45-T osciló entre el 0,970 y el 0,985 (IC 95%: 0,927 - 0,994), lo que reflejaba una concordancia intra-examinador muy alta.

RESULTADOS

Análisis de la estabilidad dimensional

Los resultados de la ANOVA de medidas repetidas de dos y tres factores se puede consultar en las **Tablas 6 y 7**. Se detectaron diferencias estadísticamente significativas antes de la sutura de los colgajos entre el grupo test y control ($p < 0,001$) (**Tabla 6**). Cuando los seis niveles apico-coronales (HT_{0-5mm}) fueron analizados como un conjunto, ni la sutura ($p = 0,891$) ni las diferentes modalidades de ROG ($p = 0,328$) indujeron ningún cambio estadísticamente significativo del HT (**Tabla 7**).

En las **Tablas 8 y 9** y las **Figuras 9 y 10** se pueden observar los resultados de HT antes y después de suturar y el cambio de HT para los 6 niveles apico-coronales (HT_{0-5mm}) y para los dos procedimientos de ROG en estudio.

La pérdida de volumen a la altura del cuello del implante (HT_{0mm}) fue del $20,5 \pm 23,3\%$ (DS) para el grupo control ($p < 0,001$) y del $2,4 \pm 9,2\%$ (DS) para el grupo test ($p = 0,197$). Los cambios de grosor de HT_{1mm} a HT_{5mm} oscilaron entre $-7,4 \pm 17,1 \%$ (DS) a $+8,4 \pm 20,8 \%$ (DS) en el grupo control y de $-1,2 \pm 8,6 \%$ (DS) a $+12,0 \pm 15,3 \%$ (DS) en el grupo test. En el grupo control se observaron reducciones estadísticamente significativas en HT_{0mm} y HT_{1mm} ($p < 0,001$ y $p = 0,03$, respectivamente). En cambio, no se observaron cambios estadísticamente significativos en HT_{0mm} ($p = 0,197$) o en HT_{1mm} ($p=0,647$). Se detectó una diferencia estadísticamente significativa en el cambio de HT entre el grupo control y test a la altura del cuello del implante (HT_{0mm} ; $p = 0,014$).

Factor(es)	Esfericidad Mauchly	F	gl	p-valor*
(1) Modalidad de tratamiento[§]	1,00	148,372	1	<0,001†
(2) Nivel apico-coronal*	<0,001	20,724	1,559	<0,001†
(1) x (2)	0,009	12,755	2,400	<0,001†

(1), Modalidad de tratamiento; (2), Nivel apico-coronal; x, interacción entre los factores; §, procedimientos de ROG; ‡, alturas de 0-5 mm desde el cuello del implante en dirección apical; F, distribución de Fischer; gl, grados de libertad; *, resultados de la ANOVA de medidas repetidas con la corrección de Greenhouse-Geisser; †, estadísticamente significativo

Tabla 6. Resultados del análisis de la ANOVA de medidas repetidas de dos factores para el grosor horizontal (HT) en la zona aumentada antes de suturar (valor basal).

Factor(es)	Esfericidad Mauchly	F	gl	p-valor*
(1) Modalidad de tratamiento[§]	1,000	245,144	1	<0,001†
(2) Nivel apico-coronal[‡]	<0,001	43,073	1,379	<0,001†
(3) Sutura	1,000	0,019	1,000	0,891
(1) x (2)	0,003	27,396	1,621	<0,001†
(1) x (3)	1,000	1,009	1,000	0,328
(2) x (3)	0,001	13,781	1,547	<0,001†
(1) x (2) x (3)	0,015	5,458	2,065	0,08

(1), Modalidad de tratamiento; (2), Nivel apico-coronal; (3) Sutura; x, interacción entre los factores; §, procedimientos de ROG; ‡, alturas de 0-5 mm desde el cuello del implante en dirección apical; F, distribución de Fischer; gl, grados de libertad; *, resultados de la ANOVA de medidas repetidas con la corrección de Greenhouse-Geisser; †, estadísticamente significativo

Tabla 7. Resultados del análisis de la ANOVA de medidas repetidas de dos y tres factores para el grosor horizontal (HT) en la zona aumentada.

Modalidad de tratamiento	Variable	Antes de suturar (mm)		Después de suturar (mm)	Cambio(mm)	Cambio (%)	p-valor*
		Media ± DS	IC 95%				
(a) Particulado + Chinchetas (II) (n=20)	HT _{0mm}	2,3 ± 0,6 [2,0; 2,6]	1,7 ± 0,5 [1,5; 2,0]	-0,6 ± 0,5 [-0,8; -0,3]	-20,5 ± 23,2 [-31,4; -9,7]	< 0,001†	
	HT _{1mm}	2,8 ± 0,6 [2,5; 3,0]	2,5 ± 0,5 [2,3; 2,7]	-0,3 ± 0,5 [-0,5; -0,0]	-7,4 ± 17,1 [-15,4; 0,6]	0,03†	
	HT _{2mm}	3,0 ± 0,6 [2,7; 3,2]	3,0 ± 0,5 [2,8; 3,2]	-0,0 ± 0,5 [-0,3; 0,2]	1,0 ± 16,8 [-6,8; 8,9]	0,8	
	HT _{3mm}	3,0 ± 0,6 [2,7; 3,3]	3,1 ± 0,5 [2,9; 3,4]	0,1 ± 0,5 [-0,1; 0,3]	5,3 ± 16,3 [-2,4; 12,9]	0,346	
	HT _{4mm}	3,0 ± 0,5 [2,7; 3,2]	3,1 ± 0,7 [2,8; 3,4]	0,1 ± 0,6 [-0,1; 0,4]	5,2 ± 20,0 [-4,2; 14,6]	0,314	
	HT _{5mm}	2,8 ± 0,5 [2,5; 3,1]	3,0 ± 0,7 [2,7; 3,4]	0,2 ± 0,6 [-0,1; 0,5]	8,4 ± 20,8 [-1,3; 18,2]	0,123	
(b) Bloque blando-L (n=20)	HT _{0mm}	4,3 ± 0,7 [4,0; 4,7]	4,2 ± 0,8 [3,9; 4,6]	-0,1 ± 0,4 [-0,3; -0,1]	-2,4 ± 9,2 [-6,7; 1,9]	0,197	
	HT _{1mm}	4,6 ± 0,7 [4,2; 4,9]	4,5 ± 0,8 [4,1; 4,9]	-0,0 ± 0,4 [-0,2; 0,1]	-0,8 ± 7,9 [-4,5; 2,8]	0,647	
	HT _{2mm}	4,7 ± 0,8 [4,4; 5,1]	4,7 ± 0,8 [4,3; 5,1]	-0,1 ± 0,4 [-0,3; 0,1]	-1,2 ± 8,6 [-5,3; 2,8]	0,462	
	HT _{3mm}	4,8 ± 0,8 [4,4; 5,2]	4,8 ± 0,8 [4,4; 5,1]	-0,0 ± 0,4 [-0,2; 0,1]	-0,8 ± 7,8 [-4,4; 2,9]	0,607	
	HT _{4mm}	4,6 ± 0,8 [4,3; 5,0]	4,7 ± 0,7 [4,4; 5,1]	0,1 ± 0,4 [-0,1; 0,3]	2,7 ± 9,6 [-1,8; 7,2]	0,311	
	HT _{5mm}	4,2 ± 0,8 [3,8; 4,5]	4,6 ± 0,7 [4,3; 4,9]	0,4 ± 0,6 [0,1; 0,7]	12,0 ± 15,3 [4,8; 19,1]	0,005†	

n, numero; HT_{xmm}, grosor horizontal de la zona rellenada medida a "x" mm apicales desde el cuello del implante; DS, desviación estándar; IC 95%, intervalo de confianza al 95%; *, resultados de la ANOVA de medidas repetidas con la corrección de Greenhouse-Geisser; †, estadísticamente significativo.

Tabla 8. Resultados del grosor horizontal (HT) de la zona aumentada y el cambio de HT a los diferentes niveles apico-coronales para los grupos (a) Particulado + Chinchetas (II) (particulado + membrana de colágeno + chinchetas) y (b) Bloque blando-L (particulado + bloque blando en forma de L + membrana de colágeno + chinchetas).

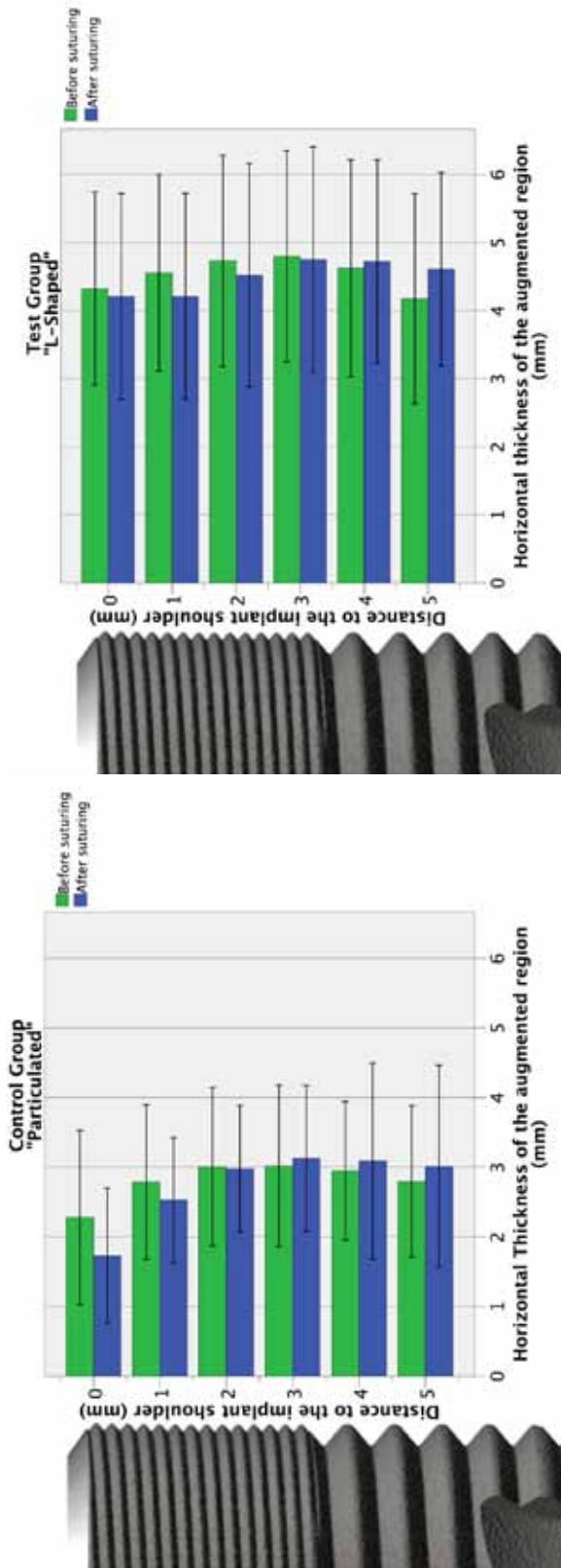


Figura 9a. Particulado + Chinchetas (II)

Figura 9b. Bloque blando-L

Figura 9. Gráficos de barras para representar el grosor horizontal (HT) de la zona aumentada a sus diferentes alturas apico-coronales (HT_{0mm} - HT_{5mm}) antes (verde - Before suturing) y después (azul - After suturing) de suturar para (a) Grupo control "Particulated" - Particulado + Chinchetas (II) (particulado + membrana de colágeno + chinchetas) y (b) Grupo test "L-Shaped" - Bloque blando-L (particulado + bloque blando en forma de L + membrana de colágeno + chinchetas). Las líneas de error representan ± 2 desviaciones estándar.

	Cambio (mm)		Cambio (%)		Análisis estadístico *
	Particulado + Chinchetas (II) (PC-II)	Bloque blando-L (BBL)	Particulado + Chinchetas (II) (PC-II)	Bloque blando-L (BBL)	
Media ± DS [IC 95%]					
HT_{0mm}	-0,6 ± 0,5 [-0,8; -0,3]	-0,1 ± 0,4 [-0,3; -0,1]	-20,5 ± 23,2 [-31,4; -9,7]	-2,4 ± 9,2 [-6,7; 1,9]	PC-II vs BBL: p = 0,014†
HT_{1mm}	-0,3 ± 0,5 [-0,5; -0,0]	-0,0 ± 0,4 [-0,2; 0,1]	-7,4 ± 17,1 [-15,4; 0,6]	-0,8 ± 7,9 [-4,5; 2,8]	PC-II vs BBL: p = 0,106
HT_{2mm}	-0,0 ± 0,5 [-0,3; 0,2]	-0,1 ± 0,4 [-0,3; 0,1]	1,0 ± 16,8 [-6,8; 8,9]	-1,2 ± 8,6 [-5,3; 2,8]	PC-II vs BBL: p = 0,748
HT_{3mm}	0,1 ± 0,5 [-0,1; 0,3]	-0,0 ± 0,4 [-0,2; 0,1]	5,3 ± 16,3 [-2,4; 12,9]	-0,8 ± 7,8 [-4,4; 2,9]	PC-II vs BBL: p = 0,257
HT_{4mm}	0,1 ± 0,6 [-0,1; 0,4]	0,1 ± 0,4 [-0,1; 0,3]	5,2 ± 20,0 [-4,2; 14,6]	2,7 ± 9,6 [-1,8; 7,2]	PC-II vs BBL: p = 0,789
HT_{5mm}	0,2 ± 0,6 [-0,1; 0,5]	0,4 ± 0,6 [0,1; 0,7]	8,4 ± 20,8 [-1,3; 18,2]	12,0 ± 15,3 [4,8; 19,1]	PC-II vs BBL: p = 0,100

HT_{xmm}, grosor horizontal de la zona rellena medida a "x" mm apicales desde el cuello del implante; DS, desviación estándar; IC 95%, intervalo de confianza al 95%; *, resultados de la ANOVA de medidas repetidas con la corrección de Greenhouse-Geisser; †, estadísticamente significativo; "PC-II" = sustituto óseo particulado de forma aislada (control); "BBL" = sustituto óseo en bloque blando en forma de L (test).

Tabla 9. Resultados del cambio en el grosor horizontal de la zona aumentada para los diferentes grupos de estudio y los resultados de la ANOVA de medidas repetidas.

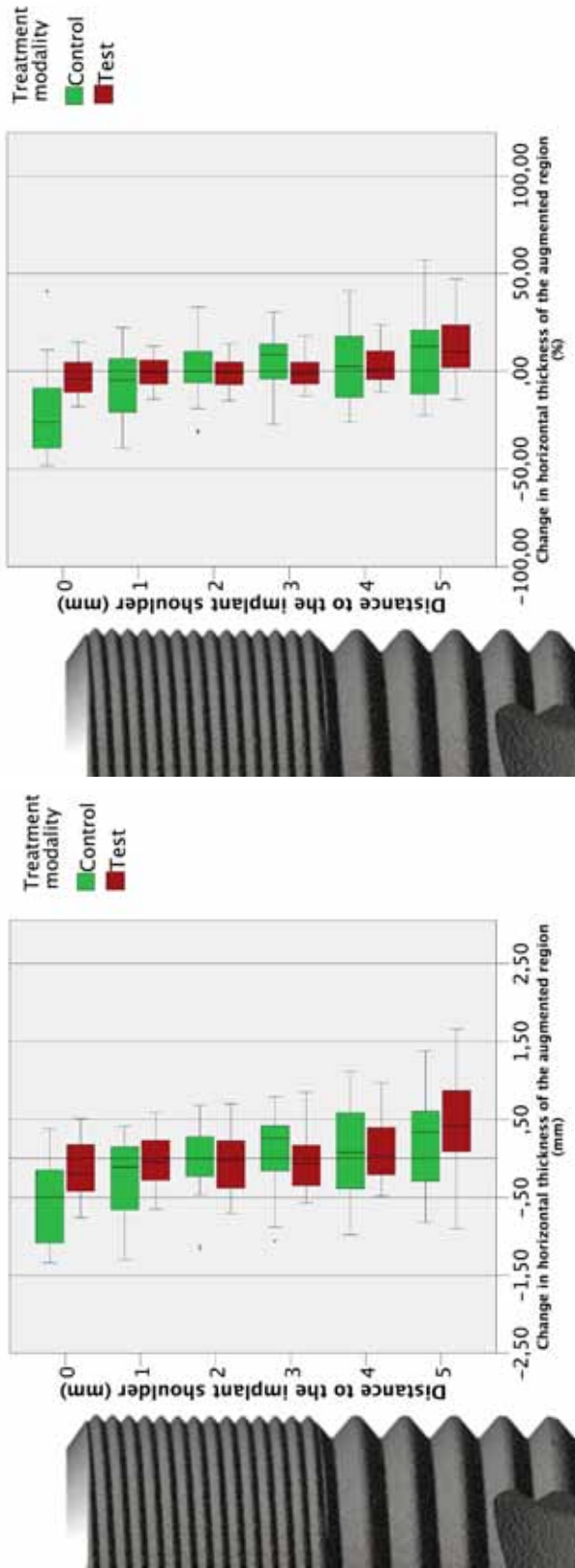


Figura 10a. Cambio en milímetros (mm)

Figura 10b. Cambio en porcentaje (%)

Figura 10. Gráficos de caja para representar los cambios en el grosor horizontal (HT) de la zona aumentada durante la sutura para los grupos control (Particulado + Chinchetas (II)) y grupo test (Bloque blando-L-) expresados en (a) mm y (b) en %.

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en ninguno de los niveles entre HT_{1mm} y HT_{5mm} (HT_{1mm'}, p = 0.106; HT_{2mm'}, p = 0.748; HT_{3mm'}, p = 0.257; HT_{4mm'}, p = 0.789; HT_{5mm'}, p = 0.100) (**Tabla 9**).

En el grupo test (Bloque blando-L), la pérdida de grosor vertical fue del 28,0 ± 11,9% (DS) y del 24,8 ± 10,2% (DS) para el grosor a 45°. Ambas diferencias fueron estadísticamente significativas (p < 0,001) (**Tabla 10** y **Figura 11**).

Modalidad de tratamiento	Variable	Antes de suturar (mm)		Después de suturar (mm)		Cambio (mm)	Cambio (%)	p-valor
		Media ± DS [IC 95%]	Media ± DS [IC 95%]	Media ± DS [IC 95%]	Media ± DS [IC 95%]			
Test (Particulado + bloque blando en L + membrana de colágeno + chinchetas de fijación) (n=20)								
	Grosor vertical (VT)	3,6 ± 0,6 [3,3; 3,9]	2,6 ± 0,6 [2,3; 2,9]	-1,0 ± 0,5 [-1,2; -0,8]	-28,0 ± 11,9 [-33,6; -22,5]			<0,001*†
	Grosor a 45 ° (45-T)	4,2 ± 0,6 [3,9; 4,4]	3,1 ± 0,6 [2,9; 3,4]	-1,0 ± 0,5 [-1,2; -0,8]	-24,8 ± 10,2 [-29,6; -20,0]			<0,001♣†

n, número; HT_{xmm}, grosor horizontal de la zona rellenada medida a "x" mm apicales desde el cuello del implante; DS, desviación estándar; IC 95%, intervalo de confianza al 95%; *, resultados de la ANOVA de medidas repetidas con la corrección de Greenhouse-Geisser; ♣, resultados del test no-paramétrico de Wilcoxon; †, estadísticamente significativo.

Tabla 10. Valores medios y cambio en el grosor vertical (VT) y el grosor a 45° (45-T) de la zona aumentada para el grupo Bloque blando-L (xenoinjerto particulado + bloque blando en L + membrana de colágeno + chinchetas) y los resultados del análisis estadístico.

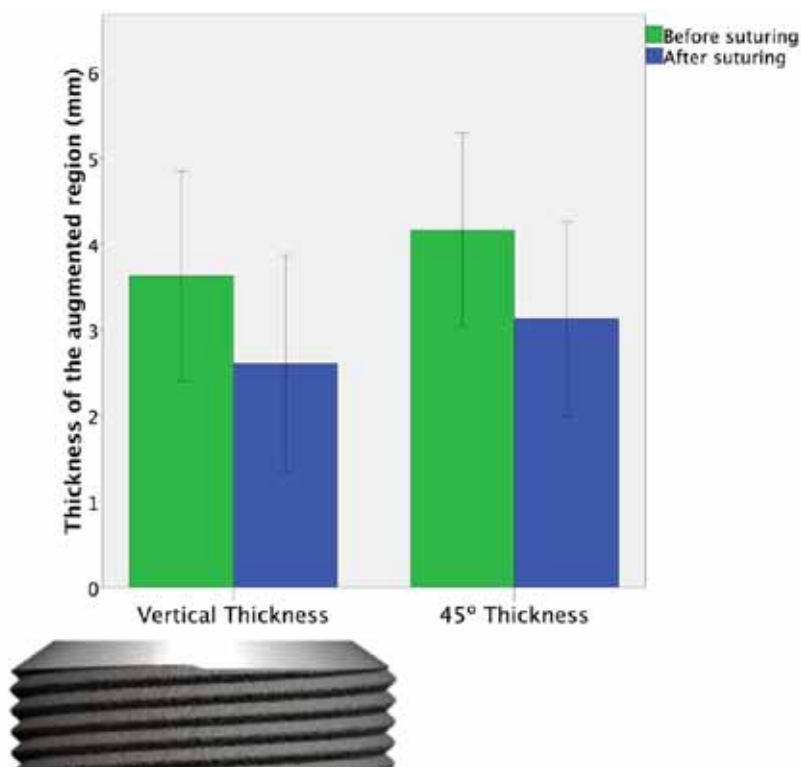


Figura 11. Gráficos de barras para representar el grosor vertical (Vertical Thickness) y el grosor a 45° (45° Thickness) de la zona aumentada en el grupo test (particulado + bloque blando en forma de L + membrana de colágeno + chinchetas) antes (verde - Before suturing) y después de suturar (azul - After suturing). Las líneas de error representan ± 2 desviaciones estándar.

En ninguna de las dos modalidades de ROG se detectó la presencia de espacios vacíos (0/20 = 0%) dentro de la zona de regeneración ni antes ni después del cierre del colgajo mucoperióstico.

Reproducibilidad del modelo de estudio in vitro en mandíbula de cerdo

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas al comparar el cambio de volumen después de la sutura en las 6 diferentes alturas (HT_{0-5mm}) entre el grupo Particulado + Chinchetas (I) del primer estudio (Mir-Mari y cols. 2016a) y el grupo control del presente (mismo protocolo de regeneración, xenoinjerto particulado + membrana de colágeno + chinchetas de fijación) ($p = 0,942$). Tampoco se detectaron diferencias al analizar los valores antes y después del cierre del colgajo ($p=0,757$). La **Tabla 11** muestra estos resultados. Por su parte, la **Tabla 12** muestra los valores medios absolutos (mm) y relativos (%) de las diferencias entre los grupos Particulado + Chinchetas (I) del estudio previo y el grupo control actual Particulado + Chinchetas (II). No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las alturas estudiadas (HT_{0-5mm}) ($p = 0.236 - 0.861$) (**Tabla 12**). Estos hallazgos demuestran que el modelo de estudio presenta un alto grado de reproducibilidad.

Factor(s)	Esfericidad Mauchly	F	gl	p-valor*
(1) Modalidad de tratamiento[§]	1,000	0,006	1	0,942
(2) Nivel apico-coronal[‡]	0,001	43,415	1,762	<0,001 [†]
(3) Sutura	1,000	3,241	1	0,088
(1) y (2)	<0,001	0,855	1,271	0,390
(1) y (3)	1,000	0,099	1	0,757
(2) y (3)	0,008	26,336	1,805	<0,001 [†]
(1), (2) y (3)	0,006	0,941	2,034	0,400

(1), Modalidad de tratamiento; (2), Nivel apico-coronal; (3), Sutura; §, procedimientos de ROG; ‡, alturas de 0-5 mm desde el cuello del implante en dirección apical; F, distribución de Fischer; gl, grados de libertad; *, resultados de la ANOVA de medidas repetidas con la corrección de Greenhouse-Geisser; †, estadísticamente significativo.

Tabla 11. Resultados del análisis de la ANOVA de medidas repetidas de tres factores para el grosor horizontal (HT) en la zona aumentada entre los grupos Particulado + Chinchetas (I) y Particulado + Chinchetas (II) (particulado + membrana de colágeno + chinchetas), del primer y segundo estudios respectivamente.

	Cambio (mm)			Cambio (%)			Análisis estadístico*
	Particulado + Chinchetas (I)	Particulado + Chinchetas (II)	Particulado + Chinchetas (I)	Particulado + Chinchetas (I)	Particulado + Chinchetas (II)		
Media ± DS [IC 95%]							
HT_{0mm}	-0,5 ± 0,4 [-0,7; -0,3]	-0,6 ± 0,5 [-0,8; -0,3]	-22,9 ± 21,2 [-32,8; -13,0]	-20,5 ± 23,2 [-31,4; -9,7]	PC-I vs PC-II: p = 0,702		
HT_{1mm}	-0,2 ± 0,4 [-0,4; -0,1]	-0,3 ± 0,5 [-0,5; -0,0]	-6,9 ± 12,5 [-12,8; -1,0]	-7,4 ± 17,1 [-15,4; 0,6]	PC-I vs PC-II: p = 0,767		
HT_{2mm}	-0,1 ± 0,3 [-0,2; 0,1]	-0,0 ± 0,5 [-0,3; 0,2]	-0,9 ± 10,5 [-5,8; 4,0]	1,0 ± 16,8 [-6,8; 8,9]	PC-I vs PC-II: p = 0,861		
HT_{3mm}	0,1 ± 0,3 [-0,1; 0,2]	0,1 ± 0,5 [-0,1; 0,3]	3,3 ± 11,0 [-1,8; 8,5]	5,3 ± 16,3 [-2,4; 12,9]	PC-I vs PC-II: p = 0,830		
HT_{4mm}	0,0 ± 0,4 [-0,1; 0,2]	0,1 ± 0,6 [-0,1; 0,4]	2,2 ± 12,0 [-3,5; 7,8]	5,2 ± 20,0 [-4,2; 14,6]	PC-I vs PC-II: p = 0,573		
HT_{5mm}	0,0 ± 0,3 [-0,1; 0,2]	0,2 ± 0,6 [-0,1; 0,5]	1,6 ± 12,1 [-4,1; 7,3]	8,4 ± 20,8 [-1,3; 18,2]	PC-I vs PC-II: p = 0,236		

HT_{xmm}: grosor horizontal de la zona rellena medida a "x" mm apicales desde el cuello del implante; DS, desviación estándar; IC 95%, intervalo de confianza al 95%; *, resultados de la ANOVA de medidas repetidas con la corrección de Greenhouse-Geisser; †, estadísticamente significativo; PPC-I : Particulado + Chinchetas (I); PPC-II : Particulado + Chinchetas (II).

Tabla 12. Resultados del grosor horizontal (HT) de la zona aumentada y el cambio de HT a los diferentes niveles apico-coronales para los grupos (a) Particulado + Chinchetas (I) (1º estudio) y (b) Particulado + Chinchetas (II) (2º estudio).

AGRADECIMIENTOS

Los investigadores agradecen a la Dra. Malgorzata Roos, (Ph.D.) (Departamento de Bioestadística, Universidad de Zúrich, Zúrich, Suiza) y la Dra. Caroline Lustenberger (Clínica de Prótesis Fija y Removible y Ciencias de los Materiales Dentales”, Centro de Medicina Dental, Universidad de Zúrich, Zúrich, Suiza) por su ayuda con el análisis e interpretación de los datos. Este estudio recibió el soporte de la Clínica de Prótesis Fija y Removible y Ciencias de los Materiales Dentales”, Centro de Medicina Dental, Universidad de Zúrich, Zúrich, Suiza. Los implantes fueron cedidos amablemente por DENTSPLY Implants, Mannheim, Germany. La Sra. Mary Georgina Hardinge ofreció su asistencia en la edición del texto en inglés.

DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

A continuación se presenta una discusión conjunta de los resultados publicados.

La presente tesis doctoral se articuló con el objetivo de analizar los siguientes aspectos:

1. La influencia de la sutura sobre la estabilidad dimensional primaria de la regeneración ósea guiada (ROG).
2. La influencia de las características mecánicas del material de regeneración sobre la estabilidad dimensional de la ROG durante la sutura del colgajo mucoperióstico.
3. La influencia del uso de chinchetas para la fijación de la membrana sobre la estabilidad dimensional de la ROG durante la sutura del colgajo mucoperióstico.
4. El efecto sobre la estabilidad dimensional en la parte más coronal de la adición de un bloque blando en forma de L al xenoinjerto particulado.
5. La validez del modelo de estudio in vitro en mandíbula de cerdo para el estudio de la estabilidad primaria de la ROG.

Principales resultados

En la primera parte de la presente tesis doctoral la sutura de los colgajos mucoperiósticos después de la regeneración ósea guiada (ROG) de defectos óseos periimplantarios causó un considerable desplazamiento del material de injerto y un colapso parcial de la membrana de colágeno. El desplazamiento del material de injerto y membrana fue más pronunciado en la porción más coronal de la región aumentada, en particular a la altura cuello del implante.

En la parte más coronal (HT_{0mm}) la pérdida de grosor horizontal (HT) osciló entre un 2 y 40% en función de la técnica de regeneración empleada. El uso de un sustituto óseo particulado y una membrana de colágeno sin fijación demostró los resultados más desfavorables, con un 40% de disminución del grosor en sentido horizontal a nivel del cuello del implante. La adición de chinchetas de fijación al xenoinjerto particulado y la membrana de colágeno o la sustitución del xenoinjerto particulado por un bloque sólido mejoraron significativamente la estabilidad. En este caso, la pérdida de HT a nivel del cuello del implante se redujo a la mitad (de -1,1 mm a -0,5 mm), y pasó de una reducción del 40% a una del 20% en el HT. Por último, la adición de un xenoinjerto en bloque blando en forma de L al sustituto óseo particulado, la membrana reabsorbible de colágeno y las chinchetas de fijación mejoró significativamente la estabilidad a nivel de HT_{0mm} y HT_{1mm} . El desplazamiento de material a este nivel fue prácticamente inexistente resultando en una contracción del 2,4% y del 0,8%, respectivamente ($-0,1 \pm 0,4$ mm y $-0,0 \pm 0,4$ mm al nivel HT_{0mm} y HT_{1mm} , respectivamente).

Sutura y cierre del colgajo

Uno de los principales objetivos de la presente tesis doctoral fue analizar la influencia de la sutura del colgajo mucoperióstico sobre la estabilidad dimensional inmediata de la ROG. Para ello, se diseñó un modelo in vitro basado en defectos periimplantarios en caja en mandíbulas de cerdo, con un componente intraóseo en sentido horizontal (*self-contained defect*) de 1 mm de profundidad. Y, siguiendo las recomendaciones generales cuando se utilizan injertos óseos particulados y membranas no rígidas (Benic y Hämmerle 2014), los sustitutos óseos se aplicaron de forma que se obtuvo una sobrecorrección del defecto en sentido horizontal de 1 mm (*non self-contained defect*). Al finalizar el experimento se pudo constatar que a pesar de conseguir un cierre primario sin tensión en todos los casos, las maniobras y el cierre del colgajo mucoperióstico causaron una reducción significativa del HT de la ROG. Cuando

se compararon las diferencias entre el HT inicial y final fue posible diferenciar tres patrones de comportamiento en función de la altura de la regeneración (Coronal, HT_{0mm} y HT_{1mm} ; Intermedia, HT_{2mm} y HT_{3mm} ; y Apical, HT_{4mm} y HT_{5mm}). Los mayores cambios, en forma de pérdida HT y desplazamiento del material (xenoinjerto y membrana) fueron detectados en la parte más coronal (HT_{0mm} y HT_{1mm} ; hasta un 43 % de pérdida). La zona intermedia (HT_{2mm} y HT_{3mm} ; hasta un 13% de pérdida) se mostró como la zona más estable. Por último, la zona apical (HT_{4mm} y HT_{5mm}) mostró una ligera tendencia a aumentar el grosor, en particular en las muestras con bloques de xenoinjerto (hasta un 27% de ganancia).

Xenoinjerto en bloque sólido

Este patrón de compresión coronal y mayor estabilidad en las partes medias y apicales coincide con los hallazgos de un reciente estudio en animales (Benic y cols. 2016). Dicho estudio comparó el uso de bloques óseos sólidos de origen equino y bloques de origen bovino con un sustituto óseo particulado en combinación con la colocación simultánea de implantes dentales para la regeneración de defectos en caja de 3 paredes. Se llevó a cabo una regeneración ósea horizontal y se obtuvo un grosor óseo homogéneo de la zona aumentada de 3 mm en todos los grupos. Tras el cierre del colgajo y después de 4 meses de cicatrización, se observó un grosor horizontal menor a la altura del cuello del implante (HT_{0mm} valores medios: 0,6 - 1,7 mm) que a 3 mm apicalmente al cuello del implante (HT_{3mm} valores medios: 2,2 - 2,8 mm). Tanto en este estudio como en la primera parte de nuestra investigación, el uso de bloques sólidos de origen bovino obtuvo una mejor estabilidad de la región aumentada que los injertos en forma particulada cuando no se emplearon chinchetas de fijación, tanto durante el cierre del colgajo, como después de 4 meses de cicatrización (Mir-Mari y cols. 2016a; Benic y cols. 2016).

A pesar de ello, y por otra parte, ambos estudios hallaron rotaciones y/o desplazamientos de los bloques sólidos de origen bovino. De hecho, el manejo

clínico de los bloques de hueso bovino desproteínizado (DBBM) se asoció con frecuencia a complicaciones intra-operatorias como, por ejemplo, la fractura del bloque durante su preparación y adaptación al defecto. En estos casos se utilizó un nuevo bloque y fue preparado de nuevo. De este mismo modo, la frecuente presencia de espacios vacíos dentro de la zona aumentada (0-35%) en las imágenes de tomografía computada de haz cónico (CBCT) se explica por la dificultad en conseguir un ajuste preciso entre el defecto óseo y el bloque sólido de DBBM. Este fenómeno de rotación del bloque explicaría la aparición de valores atípicos en el cambio de HT en la zona apical del defecto en el grupo Bloque sólido. De todos modos, es importante matizar que los bloques sólidos de xenoinjerto no fueron estabilizados mediante chinchetas de fijación. Estos hallazgos están en línea con otros autores que coinciden en la dificultad en el manejo y adaptación de este tipo de bloques sólidos (Schwarz y cols. 2010 y Bae y cols. 2014).

Chinchetas de Fijación

Como acabamos de ver, a pesar de utilizar sustitutos óseos altamente estables dimensionalmente, como es el caso de los bloques sólidos de DBBM, la falta de fijación de los mismos o de la membrana de recubrimiento puede condicionar el desplazamiento y/o rotación del material de injerto. Es por ello fundamental, destacar el papel de los sistemas de fijación en la ROG. En la primera parte de esta investigación el uso de chinchetas para la fijación de la membrana facilitó considerablemente el manejo clínico durante la ROG (Mir-Mari y cols. 2016a). La adaptación de la membrana y la estabilización del material de injerto en la posición deseada mejoraron gracias a la aplicación de dos chinchetas de fijación en la zona apical y vestibular al defecto óseo. Además, y como hemos visto anteriormente, la adición de chinchetas de fijación a la ROG con un xenoinjerto particulado y una membrana de colágeno incrementó significativamente la estabilidad dimensional, que pasó de una pérdida de volumen media de 1,1 mm en el grupo Particulado a 0,5 mm en el grupo

Particulado + Chinchetas (I). Carpio y cols. (2000), en un estudio clínico previo, llevaron a cabo procedimientos de ROG con membranas reabsorbibles o no-reabsorbibles y fijadas con chinchetas poli-lácticas o sin fijación. En los casos en que las membranas fueron fijadas, la ROG obtuvo resultados significativamente mejores en términos de complicaciones post-operatorias y reducción del defecto periimplantario en comparación con los casos en que no se utilizaron chinchetas de fijación. De todos modos, los datos científicos disponibles sobre el efecto del uso de chinchetas de fijación sobre la estabilidad tridimensional de la ROG es escasa (Benic y Hämmerle 2014). De hecho, a pesar de los buenos resultados observados en nuestra publicación, no es habitual el uso rutinario de chinchetas de fijación en combinación con las membranas de colágeno (Buser 2009).

Xenoinjerto en bloque blando en forma de L en combinación con xenoinjerto particulado

La primera parte de la presente tesis doctoral demostró que un xenoinjerto en bloque sólido o la adición de chinchetas de fijación permitieron reducir en un 100% la inestabilidad a nivel coronal de la ROG. A pesar de ello, todavía se detectó una pérdida media cercana al 20% en el mejor de los casos. Regeneraciones óseas incompletas en combinación con la colocación de implantes dentales, en especial en el sector anterior, pueden asociarse a severas complicaciones (Grunder y cols. 2005). Por ejemplo, la presencia de una dehiscencia ósea alrededor de un implante dental de titanio pueden suponer un fracaso estético de difícil manejo, en particular en casos con encías finas de menos de 2mm de grosor (Jung y cols. 2007). Por otra parte, la pérdida ósea temprana y exposición de la superficie rugosa a la cavidad oral puede favorecer el acúmulo de placa bacteriana y actuar como un factor predisponente para la mucositis y periimplantitis (Galindo-Moreno y cols. 2015).

Con el objetivo de superar cualquier inestabilidad de la región aumentada, la segunda parte de esta tesis doctoral investigó el uso de un sustituto óseo en

bloque blando cortado en forma de L (Mir-Mari y cols. 2016b). De hecho, el cambio en HT_{0mm} mejoró de una reducción del 20,5% en el grupo control (Particulado + Chinchetas (II)) a un 2,4% del grupo test cuando se añadió el bloque blando en forma de L a la ROG. En el grupo control el mayor desplazamiento medio se observó al nivel HT_{0mm} y HT_{1mm} , con una reducción media de $0,6 \pm 0,5$ mm y $0,3 \pm 0,5$ mm, respectivamente. En cambio, en el grupo test solamente se registró una pérdida de volumen de $0,1 \pm 0,4$ mm y $0,0 \pm 0,4$ mm a la altura de HT_{0mm} y HT_{1mm} , respectivamente.

Hace aproximadamente 10 años se introdujo en el mercado, en el contexto de la preservación alveolar, un sustituto óseo en bloque blando formado por partículas de DBBM incorporadas a una matriz colágena al 10% (Nevins y cols. 2003; Jung y cols. 2004; Sculean y cols. 2005; Araújo y Lindhe 2009; Araujo y cols. 2011). Debido a su flexibilidad y adaptabilidad, algunos autores han propuesto utilizarlo para la regeneración ósea horizontal. En un estudio en animales, Schwarz y cols. (2007) compararon el uso de hidroxiapatita + fosfato tricálcico como sustituto óseo frente a bloques blandos de DBBM para la ROG simultánea a la colocación de implantes. Aunque, después de un periodo de cicatrización de entre 1 - 9 semanas, se describieron buenos resultados con el uso del hueso mineral en la matriz colágena, los autores reportaron un cierto desplazamiento y descolocación de la membrana y del injerto óseo en sentido apical.

En concordancia con estudios previos, el desplazamiento apical del sustituto óseo es un hallazgo común tanto durante como después del cierre del colgajo en procedimientos de regeneración ósea (Schwarz y cols. 2007, Schwarz y cols. 2010; Bae y cols. 2014; Mir-Mari y cols. 2016a, Benic y cols. 2016). La aplicación de un bloque blando de DBBM en forma de L demostró un incremento en la estabilidad dimensional a la altura del cuello del implante ($0,1 \pm 0,4$ mm de reducción en HT_{0mm}). Mientras el grosor horizontal se mantuvo estable, toda

la presión fue aplicada sobre la parte más coronal del bloque blando. Como resultado, el grosor vertical (VT) se redujo en un 28% y el grosor a 45° (45-T) lo hizo en un 24,8%. La combinación de un particulado de DBBM en una matriz de colágeno demostró una alta capacidad de compresión y adaptabilidad a la anatomía del defecto sin comprometer la regeneración horizontal, lo que permitió un cierre del colgajo sin tensión. Adicionalmente, no se detectaron espacios vacíos en ninguna de las 20 muestras (0/20; 0%), lo que demostró la adaptabilidad del injerto óseo.

Validación del modelo de investigación

Finalmente, el último de los objetivos de la investigación actual fue comprobar la validez del modelo de estudio in vitro utilizado. Para ello, se compararon el grupo Particulado + Chinchetas (I) de la primera parte (Mir-Mari y cols. 2016a) y la repetición del mismo tratamiento bajo las mismas condiciones en la segunda parte (Particulado + Chinchetas (II) (Mir-Mari y cols. 2016b). Destaca la ausencia de diferencias significativas entre dichos grupos a todos los niveles y en todas las mediciones ($p > 0,05$ – **Tabla 12**). Con ello, la presente investigación demostró la fiabilidad y reproducibilidad del modelo de estudio in vitro en mandíbula de cerdo para el análisis de la estabilidad primaria de la ROG. En consecuencia, este modelo in vitro podría ser utilizado para analizar otras características de la regeneración asociadas con la estabilidad del material.

Limitaciones de la presente investigación

Una limitación del presente proyecto de investigación fue su diseño in vitro. Este tipo de diseños sólo permiten reproducir la situación clínica de la ROG de defectos periimplantarios de forma parcial. Por ejemplo, aspectos como la formación de un coágulo sanguíneo no pudieron ser recreados. De todos modos, aunque la formación de un coágulo sanguíneo juegue un papel relevante durante las fases iniciales de la curación, este no puede prevenir el desplazamiento

del material durante las maniobras de cierre del colgajo. En cambio, el diseño in vitro permitió estandarizar tanto el diseño del colgajo como la morfología del defecto, así como los procedimientos clínicos (cantidad de injerto, técnica de sutura, etc.). En otras palabras, un diseño in vitro permitió reducir la influencia de posibles factores de confusión sobre los resultados del estudio. Por ejemplo, con la intención de eliminar el efecto de factores relacionados con las características del colgajo, la tensión de sutura y la morfología del defecto, cada hemi-mandíbula fue utilizada una vez para cada uno de los procedimientos en estudio. Es decir, tres veces por defecto (3 grupos) para el primer estudio y dos veces por defecto para el segundo (2 grupos). Así las técnicas investigadas fueron sometidas cada vez a la misma tensión para cada muestra. Finalmente, un sólo clínico, al cual no se le informó del objetivo del estudio ni del tipo de procedimiento realizado en cada caso, llevó a cabo la sutura de todos los defectos de forma estandarizada. Debido a diferencias de volumen en la regeneración del grupo Bloque blando-L, no fue posible garantizar el ciego del operador en el momento de la sutura en dicho grupo.

Una posible limitación de la segunda parte de la investigación podría ser la diferencia técnica entre los dos procedimientos de regeneración estudiadas (Particulado + Chinchetas (II) y Bloque blando-L). En el grupo del sustituto óseo particulado utilizado de forma aislada, el material de relleno fue aplicado sólo en la cara vestibular, mientras que en el grupo del bloque blando en forma de L el material se aplicó tanto en la cara vestibular como oclusal del implante. Es importante destacar que el objetivo principal de esta parte del estudio fue comparar dos procedimientos de regeneración aplicados exactamente de la misma manera como se habría hecho en el escenario clínico real. Por ello, realizar modificaciones de la técnica para conseguir comparaciones más homogéneas no habría sido adecuado en línea con el objetivo principal. Además, hay que recordar que sólo se utilizaron las diferencias de cada sujeto entre el test y el control para las comparaciones inter-grupo.

Por último, hay que destacar que esta serie de dos artículos es la primera en la literatura en analizar la estabilidad primaria de la regeneración ósea. Por lo tanto, existe una falta de información, metodología, resultados y conclusiones con los que comparar.

Aplicabilidad clínica de los resultados

Desde un punto de vista de aplicabilidad clínica de los resultados de la presente tesis doctoral cabe hacer algunas puntualizaciones.

En general la decisión clínica en relación a la necesidad de regenerar o no, el protocolo de regeneración óptimo o la selección de los materiales más adecuados se basan en la anatomía del defecto óseo (Benic y Hämmerle 2014). De acuerdo con los datos aportados por el actual estudio, se puede deducir que es esperable un colapso parcial de la membrana de barrera cuando se lleven a cabo procedimientos regenerativos con injertos particulados y membrana de colágeno. Por consiguiente, cuando se utilicen sustitutos óseos particulados y membranas no rígidas, sería aconsejable sobre corregir el defecto óseo. Además, en aquellos casos en que se requiera una mayor estabilidad de la zona aumentada, el uso de chinchetas para fijar la membrana o injertos con una mayor estabilidad dimensional sería también aconsejable. Por último, en aquellas situaciones con alta demanda estética y/o una estabilidad coronal de la ROG comprometida, la adición de un xenoinjerto en bloque blando en forma de L permite reducir a la mínima expresión la pérdida de volumen debido a la manipulación durante la sutura del colgajo y el consecuente riesgo de complicaciones secundarias a una regeneración coronal incompleta.

Debido a la naturaleza *in vitro* de la presente investigación, no es posible sacar conclusiones sobre la regeneración ósea *per se*. De todos modos, es importante hacer algunos comentarios en relación a la formación ósea esperada cuando se utiliza la técnica de la L invertida. Estudios previos histológicos, han

demostrado que los xenoinjertos en bloque están asociados con una menor formación ósea (Araújo y cols. 2002; Schwarz y cols. 2008; Schwarz y cols. 2010; De Santis y cols. 2012). La presencia de defectos óseos de gran tamaño (Schwarz y cols. 2010; Benic y cols. 2016) o una baja compresión del injerto (aumento del espacio entre partículas) (Romanos y cols. 2015) podrían ser algunas de las razones que explicarían el porqué las partículas óseas quedan envueltas en un tejido fibroso en lugar de formar nuevo hueso. Por lo tanto, la combinación de un sustituto óseo particulado junto con la adición de una capa de sustituto óseo en bloque blando tiene como objetivo conseguir un coágulo sanguíneo estable, con un alto potencial para la regeneración ósea alrededor de la superficie del implante, a la vez que mantener el máximo volumen posible en la zona vestibular y oclusal. De hecho, es de esperar que se produzca una integración en el tejido conectivo de las partículas de la parte más externa de la ROG.

Implicaciones para la investigación futura

En el futuro, nuevas investigaciones deberían analizar en profundidad la calidad y la estabilidad del tejido formado a largo plazo cuando se combinan sustitutos óseos en forma particulada y en bloque blando. Por otra parte, estas investigaciones deberían centrarse también en las implicaciones clínicas de los resultados del presente estudio. Dichos estudios deberían determinar la necesidad del aumento óseo en relación con los resultados a largo plazo.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Con las limitaciones de la presente tesis doctoral, se puede concluir que para la ROG de defectos óseos periimplantarios:

- **Conclusión 1:** La manipulación del colgajo mucoperióstico durante la sutura causó un desplazamiento del xenoinjerto óseo y el colapso parcial de la membrana de colágeno en la porción coronal de la región aumentada.
- **Conclusión 2:** El uso de un xenoinjerto óseo en bloque en combinación con una membrana de colágeno mantuvo una mejor estabilidad dimensional tras la sutura que el uso de un xenoinjerto óseo particulado con una membrana de colágeno.
- **Conclusión 3:** La estabilidad primaria del xenoinjerto óseo particulado cubierto con una membrana de colágeno fue incrementada mediante la aplicación de chinchetas de fijación.
- **Conclusión 4:** El uso de un xenoinjerto óseo en bloque blando en forma de L en combinación con un xenoinjerto particulado, membrana de colágeno y chinchetas de fijación incrementó la estabilidad dimensional en sentido horizontal de la porción más coronal de la regeneración durante el cierre del colgajo.
- **Conclusión 5:** El actual modelo de investigación in vitro parece ser fiable para el estudio de la estabilidad primaria de los biomateriales utilizados en la ROG.

REFERENCIAS

REFERENCIAS

Albrektsson, T., Branemark, P.I., Hansson, H.A. & Lindström, J. (1981). Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting direct bone anchorage in man. *Acta Orthopaedica Scandinavica* 52 (2), 155-170.

Araújo, M.G., Sonohara, M., Hayacibara, R., Cardaropoli, G. & Lindhe, J. (2002) Lateral ridge augmentation by the use of grafts comprised of autologous bone or a biomaterial. An experiment in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* 29 (12), 1122-1131.

Araújo, M.G. & Lindhe, J. (2009) Ridge preservation with the use of Bio-Oss collagen: A 6-month study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* 20 (5), 433-440.

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), 1-8.

Bae, S.Y., Park, J.C., Shin, H.S., Lee, Y.K., Choi, S.H. & Jung, U.W. (2014) Tomographic and histometric analysis of autogenous bone block and synthetic hydroxyapatite block grafts without rigid fixation on rabbit calvaria. *Journal of Periodontal & Implant Science* 44 (5), 251-258.

Becker, W. & Becker, B.E. (1990) Guided tissue regeneration for implants placed into extraction sockets and for implant dehiscences: surgical techniques and case report. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 10 (5), 376-391.

Becker, W., Becker, B.E., Handelsman, M., Ochsenein, C. & Albrektsson, T. (1991) Guided tissue regeneration for implants placed into extraction sockets: a study in dogs. *Journal of Periodontology* 62 (11), 703-709.

Benic, G.I., Jung, R.E., Siegenthaler, D.W. & Hämmerle, C.H.F. (2009) Clinical and radiographic comparison of implants in regenerated or native bone: 5-year results. *Clinical Oral Implants Research* 20 (5), 507-513.

- Benic, G.I, Sancho-Puchades, M., Jung, R.E., Deyhle, H. & Hämmerle, C.H. (2013) In vitro assessment of artifacts induced by titanium dental implants in cone beam computed tomography. *Clinical Oral Implants Research* 24 (4), 378-383.
- Benic, G.I. & Hämmerle, C.H. (2014) Horizontal bone augmentation by means of guided bone regeneration. *Periodontology 2000* 66 (1), 13-40.
- Benic, G.I., Thoma, D.S., Muñoz, F., Sanz-Martin, I., Jung, R.E. & Hämmerle, CH. (2016) Guided bone regeneration of peri-implant defects with particulated and block xenogenic bone substitutes. *Clinical Oral Implants Research* 27 (5), 567-576.
- Branemark, P.I., Adell, R., Breine, U., Hansson, B.O., Lindstrom, J. & Ohlsson, A. (1969). Intra-osseous anchorage of dental prostheses I. Experimental studies. *Scandinavian Journal of Plastic Reconstructive Surgery* 3 (2), 81-100.
- Branemark, P.I., Hansson, B.O., Adell, R., Breine, U., Lindstrom, J., Hallén, O. & Ohman, A. (1977). Osseointegrated implants in the treatment of edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scandinavian Journal of Plastic Reconstructive Surgery* 16 (Suppl), 1-132.
- Buser, D., Bragger, U., Lang, N.P. & Nyman, S. (1990) Regeneration and enlargement of jaw bone using guided tissue regeneration. *Clinical Oral Implants Research* 1 (1), 22-32.
- Buser, D. (2009) Implant placement with simultaneous guided bone regeneration: selection of biomaterials and surgical principles. En: Buser, D. (ed) *20 years of guided bone regeneration in implant dentistry*. 2nd edition, Chicago, Quintessence Books, pp. 123-152.
- Carpio, L., Loza, J., Lynch, S. & Genco, R. (2000) Guided bone regeneration around endosseous implants with anorganic bovine bone mineral. A randomized controlled trial comparing bioabsorbable versus non-resorbable barriers. *Journal of Periodontology* 71 (11), 1743-1749.
- Chiapasco, M. & Zaniboni, M. (2009) Clinical outcomes of GBR procedures to correct peri-implant dehiscences and fenestrations: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research* 20 (Suppl 4), 113-123.

- Dahlin, C., Andersson, L. & Linde, A. (1991) Bone augmentation at fenestrated implants by an osteopromotive membrane technique. A controlled clinical study. *Clinical Oral Implants Research* 2 (4), 159-165.
- Dahlin, C., Lekholm, U., Becker, W., Becker, B., Higuchi, K., Callens, A. & van Steenberghe, D. (1995) Treatment of fenestration and dehiscence bone defects around oral implants using the guided tissue regeneration technique: a prospective multicenter study. *The International journal of oral & maxillofacial implants* 10 (3), 312-318.
- De Santis, E., Lang, N.P., Scala, A., Vigano, P., Salata, L.A. & Botticelli, D. (2012) Healing outcomes at implants installed in grafted sites: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* 23 (3), 340-350.
- Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A.G. & Buchner, A. (2007). G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods* 39 (2), 175-191.
- Faul, F., Erdfelder, E., Buchner, A. & Lang, A.G. (2009). Statistical power analyses using G*Power 3.1: Tests for correlation and regression analyses. *Behavior Research Methods* 41 (4), 1149-1160.
- Fugazzotto PA. (1997) Success and failure rates of osseointegrated implants in function in regenerated bone for 6 to 51 months: a preliminary report. *The International journal of oral & maxillofacial implants* 12 (1), 17-24.
- Galindo-Moreno, P., León-Cano, A., Ortega-Oller, I., Monje, A., O'Valle, F. & Catena, A. (2015) Marginal bone loss as success criterion in implant dentistry: beyond 2 mm. *Clinical Oral Implants Research* 26 (4), 28-34.
- Gottlow, J., Nyman, S., Karring, T. & Lindhe, J. (1984) New attachment formation as the result of controlled tissue regeneration. *Journal of Clinical Periodontology* 11 (8), 494-503.
- Gottlow, J., Nyman, S., Lindhe, J., Karring, T. & Wennstrom, J. (1986) New attachment formation in the human periodontium by guided tissue regeneration. Case reports. *Journal of Clinical Periodontology* 13 (6), 604-616.
- Gottlow, J. (1993) Guided tissue regeneration using bioresorbable and non-resorbable devices: Initial healing and long-term results. *Journal of Periodontology* 64 (Suppl 11), 1157-1165.

Gottlow, J., Laurell, L., Lundgren, D., Mathisen, T., Nyman, S., Rylander, H. & Bogentoft, C. (1994) Periodontal tissue response to a new bioresorbable guided tissue regeneration device: A longitudinal study in monkeys. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 14 (5), 436-449.

Grunder, U., Gracis, S. & Capelli, M. (2005) Influence of the 3-D bone-to-implant relationship on esthetics. *The International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 25 (2), 113-119.

Hämmerle, C.H., Jung, R.E., Yaman, D. & Lang, N.P. (2008) Ridge augmentation by applying bioresorbable membranes and deproteinized bovine bone mineral: a report of twelve consecutive cases. *Clinical Oral Implants Research* 19 (1), 19-25.

Jensen, S.S. & Terheyden, H. (2009) Bone augmentation procedures in localized defects in the alveolar ridge: clinical results with different bone grafts and bone-substitute materials. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 24 (Suppl), 218-236.

Jung, R.E., Siegenthaler, D.W. & Hämmerle, C.H. (2004) Postextraction tissue management: a soft tissue punch technique. *The International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 24 (6), 545-553.

Jung, R.E., Sailer, I., Hämmerle, C.H., Attin, T. & Schmidlin, P. (2007) In vitro color changes of soft tissues caused by restorative materials. *The International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 27 (3), 251-257.

Jung, R.E., Fenner, N., Zitzmann, N.U. & Hammerle, C.H. (2013a) Long-term outcome of implants placed with guided bone regeneration (GBR) using resorbable and non-resorbable membranes after 12 to 14 years. *Clinical Oral Implants Research* 24 (10), 1065-1073.

Jung, R.E., Benic, G.I., Scherrer, D. & Hämmerle, CH. (2015) Cone beam computed tomography evaluation of regenerated buccal bone 5 years after simultaneous implant placement and guided bone regeneration procedures--a randomized, controlled clinical trial. *Clinical Oral Implants Research* 26 (1), 28-34.

- Jung, U.W., Lee, J.S., Lee, G., Lee, I.K., Hwang, J.W., Kim, M.S., Choi, S.H. & Chai, J.K.(2013b) Role of collagen membrane in lateral onlay grafting with bovine hydroxyapatite incorporated with collagen matrix in dogs. *Journal of Periodontal and Implant Science* 43 (2), 64-71.
- Karring, T., Nyman, S., Thilander, B. & Magnusson, I. (1982) Bone regeneration in orthodontically produced alveolar bone dehiscences. *Journal of Periodontal Research* 17 (3), 309-315.
- Kohal, R.J., Trejo, P.M., Wirsching, C., Hurzeler, M.B. & Caffesse, R.G. (1999) Comparison of bioabsorbable and bioinert membranes for guided bone regeneration around non-submerged implants. An experimental study in the mongrel dog. *Clinical Oral Implants Research* 10 (3), 226-237.
- Lang, N.P., Hämmerle, C.H., Bragger, U., Lehmann, B. & Nyman, S.R. (1994) Guided tissue regeneration in jawbone defects prior to implant placement. *Clinical Oral Implants Research* 5 (2), 92-97.
- Lorenzoni, M., Pertl, C., Keil, C. & Wegscheider, W.A. (1998) Treatment of peri-implant defects with guided bone regeneration: a comparative clinical study with various membranes and bone grafts. *The International journal of oral & maxillofacial implants* 13 (5), 639-646.
- Mayfield, L., Skoglund, A., Nobreus, N. & Attstrom, R. (1998) Clinical and radiographic evaluation, following delivery of fixed reconstructions, at GBR treated titanium fixtures. *Clinical Oral Implants Research* 9 (5), 292-302.
- Mellonig, J.T., Nevins, M. & Sanchez, R. (1998) Evaluation of a bioabsorbable physical barrier for guided bone regeneration. Part I. Material alone. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry* 18 (2), 139-149.
- Mir-Mari, J., Wui, H., Jung, R.E., Hämmerle, C.H. & Benic, G.I. (2016) Influence of blinded wound closure on the volume stability of different GBR materials: an in vitro cone-beam computed tomographic examination. *Clinical Oral Implants Research* 27 (2), 258-265.
- Mir-Mari, J., Benic, G.I., Valmaseda-Castellón, E., Hämmerle, C.H. & Jung, R.E. (2016) Influence of wound closure on the volume stability of particulate and non particulate GBR materials: an in vitro cone-beam computed tomographic examination. Part II. *Clinical Oral Implants Research* 00, 1-9 [Epub ahead of print].

- Misch, C.E. & Misch-Dietsh F. (2009). Capítulo 36: Claves para los injertos óseos y los materiales de injerto óseo. En: Misch, C.E. (ed.) *Implantología Contemporánea*. 3ª edición, Barcelona, Elsevier, pp. 839-869.
- Nevins, M.L., Camelo, M., Lynch, S.E., Schenk, R.K. & Nevins, M. (2003) Evaluation of periodontal regeneration following grafting intrabony defects with bio-oss collagen: a human histologic report. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 23 (1), 9-17.
- Nyman, S. & Karring, T. (1979) Regeneration of surgically removed buccal alveolar bone in dogs. *Journal of Periodontal Research* 14 (1), 86-92.
- Nyman, S., Gottlow, J., Karring, T. & Lindhe, J. (1982) The regenerative potential of the periodontal ligament. An experimental study in the monkey. *Journal of Clinical Periodontology* 9 (3), 257-265.
- Nyman, S. (1991) Bone regeneration using the principle of guided tissue regeneration. *Journal of Clinical Periodontology* 18 (6), 494-498.
- Palmer, R.M., Smith, B.J., Palmer, P.J., Floyd, P.D., Johansson, C.B. & Albrektsson T. (1998) Effect of loading on bone regenerated at implant dehiscence sites in humans. *Clinical Oral Implants Research* 9 (5), 283-291.
- Romanos, G.E., Delgado-Ruiz, R.A., Gómez-Moreno, G., López-López, P.J., Mate Sanchez de Val, J.E. & Calvo-Guirado, J.L. (2015) Role of mechanical compression on bone regeneration around a particulate bone graft material: an experimental study in rabbit calvaria. *Clinical Oral Implants Research* 00, 1-8. [Epub ahead of print].
- Schroeder, A., van der Zypen, E., Stich, H. & Sutter, F. (1981) The reactions of bone, connective tissue, and epithelium to endosteal implants with titanium-sprayed surfaces. *Journal of Maxillofacial Surgery* 9 (1), 19-25.
- Schwarz, F., Herten, M., Ferrari, D., Wieland, M., Schmitz, L., Engelhardt, E. & Becker, J. (2007) Guided bone regeneration at dehiscence-type defects using biphasic hydroxyapatite + beta tricalcium phosphate (Bone Ceramic) or a collagen-coated natural bone mineral (BioOss Collagen): an immunohistochemical study in dogs. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 36 (12), 1198-1206.

- Schwarz, F., Rothamel, D., Herten, M., Ferrari, D., Sager, M. & Becker, J. (2008) Lateral ridge augmentation using particulated or block bone substitutes biocoated with rhGDF-5 and rhBMP-2: an immunohistochemical study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* 19 (7), 642-652.
- Schwarz, F., Ferrari, D., Balic, E., Buser, D., Becker, J. & Sager, M. (2010) Lateral ridge augmentation using equine- and bovine-derived cancellous bone blocks: a feasibility study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* 21 (9), 904-912.
- Sculean, A., Chiantella, G.C., Windisch, P., Arweiler, N.B., Brex, M. & Gera, I. (2005) Healing of intra-bony defects following treatment with a composite bovine-derived xenograft (Bio-Oss Collagen) in combination with a collagen membrane (Bio-Gide PERIO). *Journal of Clinical Periodontology* 32 (7), 720-724.
- Simion, M., Baldoni, M., Rossi, P. & Zaffe, D. (1994). A comparative study of the effectiveness of ePTFE membranes with and without early exposure during the healing period. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* 14 (2), 167-180.
- Strietzel, F.P., Khongkhunthian, P., Khattiya, R., Patchanee, P. & Reichart, P.A. (2006) Healing pattern of bone defects covered by different membrane types--a histologic study in the porcine mandible. *Journal of biomedical materials research Part B. Applied Biomaterials* 78 (1), 35-46.
- 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.
- von Arx, T., Cochran, D.L., Hermann, J.S., Schenk, R.K. & Buser, D. (2001) Lateral ridge augmentation using different bone fillers and barrier membrane application. A histologic and histomorphometric pilot study in the canine mandible. *Clinical oral implants research* 12 (3), 260-269.
- Warrer, L., Gotfredsen, K., Hjorting-Hansen, E. & Karring, T. (1991) Guided tissue regeneration ensures osseointegration of dental implants placed into extraction sockets. An experimental study in monkeys. *Clinical Oral Implants Research* 2 (4), 166-171.

- 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. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 13 (3), 333-341.
- Zecha, P.J., Schortinghuis, J., van der Wal, J.E., Nagursky, H., van den Broek, K.C. & Sauerbier, S. (2011) Applicability of equine hydroxyapatite collagen (eHAC) bone blocks for lateral augmentation of the alveolar crest. A histological and histomorphometric analysis in rats. *International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery* 40 (5), 533-542.
- Zellin, G., Gritli-Linde, A. & Linde, A. (1995) Healing of mandibular defects with different biodegradable and non-biodegradable membranes: an experimental study in rats. *Biomaterials* 16 (8), 601-609.
- Zitzmann, N.U., Naef, R. & Scharer, P. (1997) Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration. *The International journal of oral & maxillofacial implants* 12 (6), 844-852.
- Zitzmann, N.U., Schärer, P. & Marinello, C.P. (1999) Factors influencing the success of GBR. Smoking, timing of implant placement, implant location, bone quality and provisional restoration. *Journal of Clinical Periodontology* 26 (10), 673-682.
- Zitzmann, N.U., Schärer, P. & Marinello, C.P. (2001) Long-term results of implants treated with guided bone regeneration: a 5-year prospective study. *The International journal of oral & maxillofacial implants* 16 (3), 355-366.
- Zumstein, T., Billstrom, C. & Sennerby, L. (2012) A 4- to 5-Year Retrospective Clinical and Radiographic Study of Neoss Implants Placed with or without GBR Procedures. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 14 (4), 480-490.

ANEXOS

ESTUDIO I

Influencia del cierre del colgajo en la estabilidad dimensional de diferentes materiales para la ROG: estudio in vitro con tomografía computada de haz cónico

Referencia completa del artículo:

Mir-Mari, J., Wui, H., Jung, R.E., Hämmerle, C.H. & Benic, G.I. (2016) Influence of blinded wound closure on the volume stability of different GBR materials: an in vitro cone-beam computed tomographic examination. *Clinical Oral Implants Research* 27 (2), 258-265.

Detalles del trabajo:

- Revista de publicación: Clinical Oral Implants Research
- Factor de Impacto de la revista: 3,464.
- ISI Journal Citation Reports © Ranking: 2015: 7/89 (Dentistry Oral Surgery & Medicine); 11/76 (Engineering Biomedical)
- Fecha de aceptación: 4 Marzo del 2015
- Fecha publicación online: 9 de Abril del 2015
- Fecha de asignación de volumen: 24 de Enero del 2016
- DOI: 10.1111/clr.12590
- Autores: Mir-Mari, Javier¹; Wui, Hu²; Jung, Ronald E.³; Hämmerle, Christoph H.F.³; Benic, Goran I.³
- Información sobre los autores:
 - ¹ Unidad de Cirugía Bucal e Implantología, Facultad de Odontología, Universidad de Barcelona, España
 - ² Centro de Implantología, Hospital y Escuela de Estomatología, Universidad de Pequín, Pequín, China.
 - ³ Clínica de Prótesis Fija y Removible y Ciencias de los Materiales Dentales, Centro de Medicina Dental, Universidad de Zúrich, Zúrich, Suiza.

PERMISO DE REPRODUCCIÓN

JOHN WILEY AND SONS LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Oct 29, 2016

This Agreement between Javier Mir ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

License Number	3975810141530
License date	Oct 25, 2016
Licensed Content Publisher	John Wiley and Sons
Licensed Content Publication	Clinical Oral Implants Research
Licensed Content Title	Influence of blinded wound closure on the volume stability of different GBR materials: an in vitro cone-beam computed tomographic examination
Licensed Content Author	Javier Mir-Mari,Hu Wui,Ronald E. Jung,Christoph H. F. Hämmerle,Goran I. Benic
Licensed Content Date	Apr 9, 2015
Licensed Content Pages	8
Type of use	Dissertation/Thesis
Requestor type	Author of this Wiley article
Format	Print and electronic
Portion	Full article
Will you be translating?	Yes, including English rights
Number of languages	1
Languages	Spanish
Title of your thesis / dissertation	Influence of the wound closure and surgical technique on the primary dimensional stability of the guided bone regeneration. An in vitro cone-beam computed tomographic examination
Expected completion date	Feb 2017
Expected size (number of pages)	100
Requestor Location	Javier Mir-Mari C/Miguel de Veri, 8A Mahón (Menorca), 07712 Spain Attn: Javier Mir-Mari
Publisher Tax ID	EU826007151
Billing Type	Invoice
Billing Address	Javier Mir-Mari C/Miguel de Veri, 8A Mahón (Menorca), Spain 07712 Attn: Javier Mir-Mari

Total 0.00 EUR

Terms and Conditions

TERMS AND CONDITIONS

This copyrighted material is owned by or exclusively licensed to John Wiley & Sons, Inc. or one of its group companies (each a "Wiley Company") or handled on behalf of a society with which a Wiley Company has exclusive publishing rights in relation to a particular work (collectively "WILEY"). By clicking "accept" in connection with completing this licensing transaction, you agree that the following terms and conditions apply to this transaction (along with the billing and payment terms and conditions established by the Copyright Clearance Center Inc., ("CCC's Billing and Payment terms and conditions"), at the time that you opened your RightsLink account (these are available at any time at <http://myaccount.copyright.com>).

Terms and Conditions

- The materials you have requested permission to reproduce or reuse (the "Wiley Materials") are protected by copyright.
- You are hereby granted a personal, non-exclusive, non-sub licensable (on a stand-alone basis), non-transferable, worldwide, limited license to reproduce the Wiley Materials for the purpose specified in the licensing process. This license, and any CONTENT (PDF or image file) purchased as part of your order, is for a one-time use only and limited to any maximum distribution number specified in the license. The first instance of republication or reuse granted by this license must be completed within two years of the date of the grant of this license (although copies prepared before the end date may be distributed thereafter). The Wiley Materials shall not be used in any other manner or for any other purpose, beyond what is granted in the license. Permission is granted subject to an appropriate acknowledgement given to the author, title of the material/book/journal and the publisher. You shall also duplicate the copyright notice that appears in the Wiley publication in your use of the Wiley Material. Permission is also granted on the understanding that nowhere in the text is a previously published source acknowledged for all or part of this Wiley Material. Any third party content is expressly excluded from this permission.
- With respect to the Wiley Materials, all rights are reserved. Except as expressly granted by the terms of the license, no part of the Wiley Materials may be copied, modified, adapted (except for minor reformatting required by the new Publication), translated, reproduced, transferred or distributed, in any form or by any means, and no derivative works may be made based on the Wiley Materials without the prior permission of the respective copyright owner. For STM Signatory Publishers clearing permission under the terms of the STM Permissions Guidelines only, the terms of the license are extended to include subsequent editions and for editions in other languages, provided such editions are for the work as a whole in situ and does not involve the separate exploitation of the permitted figures or extracts, You may not alter, remove or suppress in any manner any copyright, trademark or other notices displayed by the Wiley Materials. You may not license, rent, sell, loan, lease, pledge, offer as security, transfer or assign the Wiley Materials on a stand-alone basis, or any of the rights granted to you hereunder to any other person.
- The Wiley Materials and all of the intellectual property rights therein shall at all times remain the exclusive property of John Wiley & Sons Inc, the Wiley Companies, or their respective licensors, and your interest therein is only that of having possession of and the right to reproduce the Wiley Materials pursuant to Section 2 herein during the

continuance of this Agreement. You agree that you own no right, title or interest in or to the Wiley Materials or any of the intellectual property rights therein. You shall have no rights hereunder other than the license as provided for above in Section 2. No right, license or interest to any trademark, trade name, service mark or other branding ("Marks") of WILEY or its licensors is granted hereunder, and you agree that you shall not assert any such right, license or interest with respect thereto

- NEITHER WILEY NOR ITS LICENSORS MAKES ANY WARRANTY OR REPRESENTATION OF ANY KIND TO YOU OR ANY THIRD PARTY, EXPRESS, IMPLIED OR STATUTORY, WITH RESPECT TO THE MATERIALS OR THE ACCURACY OF ANY INFORMATION CONTAINED IN THE MATERIALS, INCLUDING, WITHOUT LIMITATION, ANY IMPLIED WARRANTY OF MERCHANTABILITY, ACCURACY, SATISFACTORY QUALITY, FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE, USABILITY, INTEGRATION OR NON-INFRINGEMENT AND ALL SUCH WARRANTIES ARE HEREBY EXCLUDED BY WILEY AND ITS LICENSORS AND WAIVED BY YOU.
- WILEY shall have the right to terminate this Agreement immediately upon breach of this Agreement by you.
- You shall indemnify, defend and hold harmless WILEY, its Licensors and their respective directors, officers, agents and employees, from and against any actual or threatened claims, demands, causes of action or proceedings arising from any breach of this Agreement by you.
- IN NO EVENT SHALL WILEY OR ITS LICENSORS BE LIABLE TO YOU OR ANY OTHER PARTY OR ANY OTHER PERSON OR ENTITY FOR ANY SPECIAL, CONSEQUENTIAL, INCIDENTAL, INDIRECT, EXEMPLARY OR PUNITIVE DAMAGES, HOWEVER CAUSED, ARISING OUT OF OR IN CONNECTION WITH THE DOWNLOADING, PROVISIONING, VIEWING OR USE OF THE MATERIALS REGARDLESS OF THE FORM OF ACTION, WHETHER FOR BREACH OF CONTRACT, BREACH OF WARRANTY, TORT, NEGLIGENCE, INFRINGEMENT OR OTHERWISE (INCLUDING, WITHOUT LIMITATION, DAMAGES BASED ON LOSS OF PROFITS, DATA, FILES, USE, BUSINESS OPPORTUNITY OR CLAIMS OF THIRD PARTIES), AND WHETHER OR NOT THE PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES. THIS LIMITATION SHALL APPLY NOTWITHSTANDING ANY FAILURE OF ESSENTIAL PURPOSE OF ANY LIMITED REMEDY PROVIDED HEREIN.
- Should any provision of this Agreement be held by a court of competent jurisdiction to be illegal, invalid, or unenforceable, that provision shall be deemed amended to achieve as nearly as possible the same economic effect as the original provision, and the legality, validity and enforceability of the remaining provisions of this Agreement shall not be affected or impaired thereby.
- The failure of either party to enforce any term or condition of this Agreement shall not constitute a waiver of either party's right to enforce each and every term and condition of this Agreement. No breach under this agreement shall be deemed waived or excused by either party unless such waiver or consent is in writing signed by the party granting such waiver or consent. The waiver by or consent of a party to a breach of any provision of this Agreement shall not operate or be construed as a waiver of or consent to any other or subsequent breach by such other party.

- This Agreement may not be assigned (including by operation of law or otherwise) by you without WILEY's prior written consent.
- Any fee required for this permission shall be non-refundable after thirty (30) days from receipt by the CCC.
- These terms and conditions together with CCC's Billing and Payment terms and conditions (which are incorporated herein) form the entire agreement between you and WILEY concerning this licensing transaction and (in the absence of fraud) supersedes all prior agreements and representations of the parties, oral or written. This Agreement may not be amended except in writing signed by both parties. This Agreement shall be binding upon and inure to the benefit of the parties' successors, legal representatives, and authorized assigns.
- In the event of any conflict between your obligations established by these terms and conditions and those established by CCC's Billing and Payment terms and conditions, these terms and conditions shall prevail.
- WILEY expressly reserves all rights not specifically granted in the combination of (i) the license details provided by you and accepted in the course of this licensing transaction, (ii) these terms and conditions and (iii) CCC's Billing and Payment terms and conditions.
- This Agreement will be void if the Type of Use, Format, Circulation, or Requestor Type was misrepresented during the licensing process.
- This Agreement shall be governed by and construed in accordance with the laws of the State of New York, USA, without regards to such state's conflict of law rules. Any legal action, suit or proceeding arising out of or relating to these Terms and Conditions or the breach thereof shall be instituted in a court of competent jurisdiction in New York County in the State of New York in the United States of America and each party hereby consents and submits to the personal jurisdiction of such court, waives any objection to venue in such court and consents to service of process by registered or certified mail, return receipt requested, at the last known address of such party.

WILEY OPEN ACCESS TERMS AND CONDITIONS

Wiley Publishes Open Access Articles in fully Open Access Journals and in Subscription journals offering Online Open. Although most of the fully Open Access journals publish open access articles under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY) License only, the subscription journals and a few of the Open Access Journals offer a choice of Creative Commons Licenses. The license type is clearly identified on the article.

The Creative Commons Attribution License

The Creative Commons Attribution License (CC-BY) allows users to copy, distribute and transmit an article, adapt the article and make commercial use of the article. The CC-BY license permits commercial and non-

Creative Commons Attribution Non-Commercial License

The Creative Commons Attribution Non-Commercial (CC-BY-NC) License permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.(see below)

Creative Commons Attribution-Non-Commercial-NoDerivs License

The Creative Commons Attribution Non-Commercial-NoDerivs License (CC-BY-NC-ND)

permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, is not used for commercial purposes and no modifications or adaptations are made. (see below)

Use by commercial "for-profit" organizations

Use of Wiley Open Access articles for commercial, promotional, or marketing purposes requires further explicit permission from Wiley and will be subject to a fee.

Further details can be found on Wiley Online Library

<http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-410895.html>

Other Terms and Conditions:

v1.10 Last updated September 2015

Questions? customercare@copyright.com or +1-855-239-3415 (toll free in the US) or +1-978-646-2777.

PUBLICACIÓN ORIGINAL

CLINICAL ORAL IMPLANTS RESEARCH

Javier Mir-Mari
Hu Wui
Ronald E. Jung
Christoph H. F. Hämmerle
Goran I. Benic

Influence of blinded wound closure on the volume stability of different GBR materials: an *in vitro* cone-beam computed tomographic examination

Authors' affiliations:

Javier Mir-Mari, Oral Surgery and Implantology Department, Dental School, University of Barcelona, Barcelona, Spain
Hu Wui, Implant Center, School and Hospital of Stomatology, Peking University, Beijing, China
Ronald E. Jung, Christoph H. F. Hämmerle, Goran I. Benic, Clinic of Fixed and Removable Prosthodontics and Dental Material Science, Center of Dental Medicine, University of Zurich, Zurich, Switzerland

Corresponding author:

Dr. Goran I. Benic
Clinic of Fixed and Removable Prosthodontics and Dental Material Science
Center of Dental Medicine
University of Zurich, Plattenstrasse 11
8032 Zurich
Switzerland
Tel.: +41 44 634 32 52
Fax: +41 44 634 43 05
e-mail: goran.benic@zkm.uzh.ch

Key words: alveolar ridge augmentation, block, bone, bone substitute, cone-beam computed tomography, dental implants, graft, guided bone regeneration, guided tissue regeneration, *in vitro*, membrane, pin, tack

Abstract

Objective: To test whether the use of (i) particulated bone substitute + collagen membrane used for guided bone regeneration (GBR) of peri-implant bone defects renders different results from (ii) particulated bone substitute + collagen membrane + fixation pins and from (iii) block bone substitute + collagen membrane with respect to the volume stability of the augmented region during suturing of mucosal flaps.

Material and methods: Twenty peri-implant box-shaped bone defects were created in 10 pig mandibles. Every bone defect was augmented once with each of the following GBR procedures: Granulate (particulated xenograft + collagen membrane), Granulate + Pins (particulated xenograft + collagen membrane + fixation pins), and Block (block xenograft + collagen membrane). Cone-beam computed tomography scans were obtained prior and after blinded wound closure. The horizontal thickness (HT) of the augmented region (bone substitute + membrane) was assessed at the implant shoulder (HT_{0 mm}) and at 1–5 mm apical to the implant shoulder (HT_{1 mm}–HT_{5 mm}). The changes of HT during flap suturing were calculated as absolute (mm) and relative values (%). Repeated-measures ANOVA was used for statistical analysis.

Results: Wound closure induced a statistically significant change of HT_{0 mm} and of HT_{1 mm} in all the treatment groups ($P \leq 0.05$). The change in HT_{0 mm} measured $-42.8 \pm 17.9\%$ (SD) for Granulate, $-22.9 \pm 21.2\%$ (SD) for Granulate + Pins, and $-20.2 \pm 18.9\%$ (SD) for Block. The reduction in HT_{0 mm}, HT_{1 mm}, HT_{2 mm} and HT_{3 mm} for the Granulate procedure was significantly higher as compared to the Granulate + Pins and the Block procedures ($P \leq 0.05$). There were no statistically significant differences in the change of HT between the Granulate + Pins and the Block procedures ($P > 0.05$).

Conclusion: Wound closure induced displacement of the bone substitute resulting in a partial collapse of the collagen membrane in the coronal portion of the augmented site. The stability of the bone substitute and collagen membrane was enhanced by the application of fixation pins and by the use of block bone substitute instead of particulated bone substitute.

Edentulous jaw regions frequently present a reduced dimension of the alveolar ridge, due to either congenital or post-inflammatory defects or resulting from post-extraction ridge resorption (Tan et al. 2012). The prosthetically driven implant placement is therefore often associated with the presence of peri-implant bone dehiscences and fenestrations.

Guided bone regeneration (GBR) is the best documented method used to augment bone in localized alveolar defects (Benic & Hämmerle 2014). A large number of preclinical and clinical trials demonstrated that exposed implant

surfaces can successfully osseointegrate following GBR procedures (Becker et al. 1991; Warrar et al. 1991; Palmer et al. 1998; Wilson et al. 1998; Kohal et al. 1999). Moreover, there is a large body of clinical evidence documenting that survival rates of dental implants placed in conjunction with GBR are similar to survival rates of implants entirely placed into the native bone (Mayfield et al. 1998; Zitzmann et al. 2001; Benic et al. 2009; Zumstein et al. 2012; Jung et al. 2013).

The application of particulated deproteinized bovine-derived bone mineral (DBBM)

Date:

Accepted 4 March 2015

To cite this article:

Mir-Mari J, Wui H, Jung RE, Hämmerle CHF, Benic GI. Influence of blinded wound closure on the volume stability of different GBR materials: an *in vitro* cone-beam computed tomographic examination. *Clin. Oral Impl. Res.* 27, 2016, 258–265
doi: 10.1111/clr.12590

covered with resorbable collagen membrane is, currently, the most widely used and best documented method for augmentation of dehiscence- and fenestration-type bone defects (Chiapasco & Zaniboni 2009; Jensen & Terheyden 2009). DBBM and native collagen membranes exhibit good tissue integration, rendering high clinical success and low complication rates of the GBR procedures (Benic & Hämmerle 2014). However, major drawback of particulated grafting materials and collagen membranes may be caused by their unfavorable mechanical properties with poor resistance to collapse. While suturing the mucosal flap or during the healing phase, compressive forces at the augmented site may result in membrane collapse and displacement of parts of the grafting material (Zellin et al. 1995; Mello-nig et al. 1998; Strietzel et al. 2006; Schwarz et al. 2007).

Some publications pointed out that the volume stability of sites that are augmented by GBR may be affected by the properties of the grafting material and the membrane, the use of pins for membrane stabilization, the flap manipulation and the type of temporary restoration (Lorenzoni et al. 1998; Zitzmann et al. 1999; Carpio et al. 2000; Von Arx et al. 2001). There is, however, limited evidence available on the short- and long-term three-dimensional changes of jaw regions augmented by means of GBR (Benic & Hämmerle 2014).

The primary aim of this study was to test whether the flap suturing following GBR of peri-implant bone defects using xenografts and collagen membranes induces, as assessed by means of cone-beam computed tomography (CBCT), a displacement of the grafting material. In addition, it was tested whether the use of (i) particulated bone substitute + collagen membrane renders different results from (ii) particulated bone substitute + collagen membrane + fixation pins and from (iii) block bone substitute + collagen membrane with respect to the volume stability of the augmented region during suturing of mucosal flaps.

Material and methods

Two clinicians performed the experimental surgical interventions. The first operator created the peri-implant defects and performed GBR. The second clinician, that was unaware of the treatment strategy used for GBR and of the aim of the study, provided the wound closure to eliminate operator's bias.

In vitro model

Ten mandibles were obtained from 5-month-old pigs. Crestal incisions were bilaterally performed mesial to the second premolars, and one vertical releasing incision was made at the disto-buccal aspect of each second premolar. Mucoperiosteal flaps were elevated, second premolars were hemi-sectioned, and their mesial roots were extracted. Twenty box-shaped bone defects, one at each extraction site, were prepared by means of cylindrical carbide drills. The bone defects measured 8 mm mesio-distally, 3 mm bucco-orally, and 6 mm apico-coronally (Fig. 1). One 8-mm-length and 4-mm-diameter titanium implant (OsseoSpeed™ S; ASTRA TECH Implant System; DENTSPLY Implants, Mannheim, Germany) was inserted into each bone defect by placing the implant central axis along the lingual bone wall at the same distance from the mesial and the distal walls of the defect. The apico-coronal position of the implant shoulder corresponded to the most coronal part of the lingual bone wall. The distance between the implant surface and the most buccal aspect of the apical bone wall, in a direction perpendicular to the axis of the implant, measured 1 mm (Fig. 1).

GBR and wound closure

Prior to GBR, bone substitute materials were soaked in 50% aqueous solution of a radio-opaque contrast medium (Gastrografin®; Bayer, Zurich, Switzerland).

Every bone defect ($n = 20$) was augmented once for each GBR procedure under investigation. The sequence of the application was randomly assigned by casting a die.

The following GBR procedures were tested (Fig. 2):

- *Granulate*: Particulated demineralized bovine bone mineral (DBBM) (Bio-Oss® granules 0.25–1 mm; Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) + collagen membrane (Bio-Gide®; Geistlich Pharma AG) ($n = 20$);

- *Granulate + Pins*: Particulated DBBM (Bio-Oss® granules 0.25–1 mm; Geistlich Pharma AG) + collagen membrane (Bio-Gide®; Geistlich Pharma AG) + two titanium fixation pins (Frios®; DENTSPLY Implants) ($n = 20$);
- *Block*: Block DBBM (Bio-Oss® block; Geistlich Pharma AG) + collagen membrane (Bio-Gide®; Geistlich Pharma AG) ($n = 20$).

Bone substitutes were applied aiming to achieve 1 mm of over-contour with respect to the buccal surface of the alveolar ridge. A customized silicone guide was used to enable the application of a standardized amount of grafting material. For *Block* procedure, a block DBBM was individually shaped and adapted to fit the bone defect using cylindrical carbide drills. The collagen membrane was applied to cover the bone substitute and overlap the walls of the defect by at least 2 mm. For *Granulate + Pins* procedure, two titanium pins were placed 1 mm apically to the apical wall of the defect to stabilize the collagen membrane (Fig. 2).

A periosteal release incision was performed in the apical portion of the buccal mucoperiosteal flap. The flaps were sutured with a polyamide monofilament suture (Daflon® 5-0; B. Braun Medical AG, Sempach, Switzerland). One operator, that was unaware of the treatment strategy used for GBR, performed the suturing procedure in a standardized way (one horizontal mattress and four single interrupted sutures per site) (Fig. 2).

Prior to the subsequent GBR procedure, the sutures, the membrane, the pins, and the bone substitute were removed and the experimental site was rinsed with a 0.9% saline solution.

CBCT scanning

CBCT scans (I-Cat®; KaVo Dental GmbH, Biberach, Germany) of the mandible were

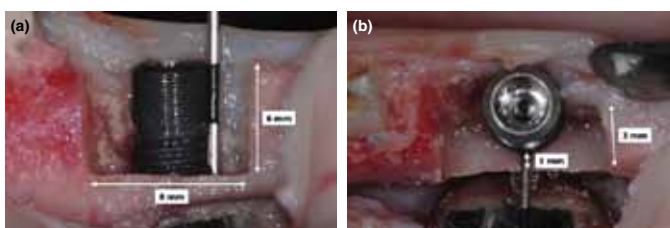


Fig. 1. (a) Buccal and (b) occlusal view of the experimental peri-implant bone defect.

performed immediately prior and after the flap suturing at each site. For the scanning procedure, the jaws were positioned on the

supporting plate provided by the manufacturer with the occlusal plane parallel to the horizontal plane and positioned in the center

of field of view (FOV) using the laser orientation beams. The CBCT scans were obtained with the following technical parameters: 120 kV acceleration voltage, 5 mA beam current, FOV diameter of 16 cm, FOV height of 6 cm, 600 projections, 360° rotation, voxel size of 0.25 mm, and scan time of 14.7 s.

CBCT image evaluation

OsiriX™ imaging software (OsiriX v.4.0 32-bit, Pixmeo SARL, Bernex, Switzerland) was used for the evaluation of the CBCT DICOM datasets. "Full dynamic" visualization modality was used to set the window level (3084) and window width (8168). Cross-sectional images perpendicular to the implant central axis and mandibular panoramic curve were used for the measurements. The horizontal thickness of the augmented region (bone substitute + membrane) was assessed in a direction perpendicular to the implant surface at the implant shoulder ($HT_{0\text{ mm}}$) and at 1, 2, 3, 4, and 5 mm apical to the implant shoulder ($HT_{1\text{ mm}}-HT_{5\text{ mm}}$) (Fig. 3). To facilitate the reproducibility of the measurements, a transparent acetate foil with printed implant outlines and levels for the assessment of HT was placed on the computer monitor over the CBCT images (Benic et al. 2013).

The presence of void spaces within the augmented area was assessed to describe the fit of the bone substitute to the bone defect. Void spaces were defined as radiolucent regions within the augmented area with a diameter ≥ 0.5 mm. One calibrated investigator performed all the CBCT measurements.

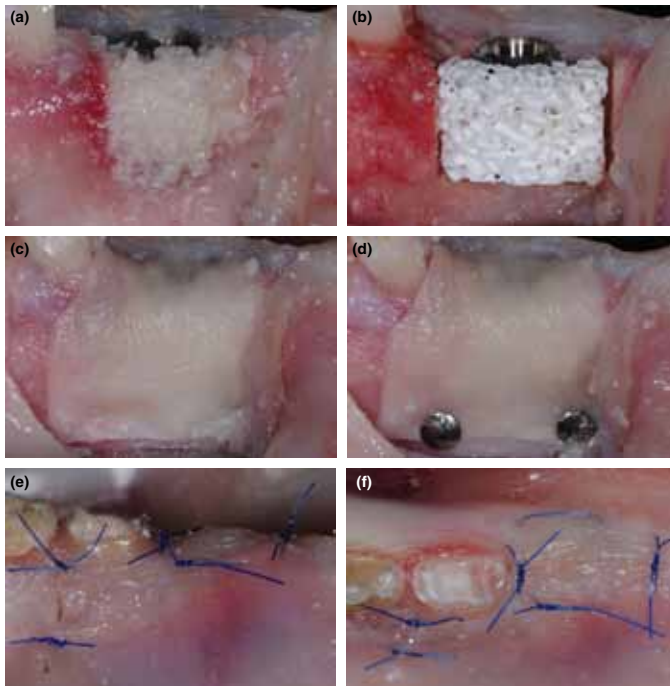


Fig. 2. (a) Particulated xenograft applied for the Granulate and the Granulate + Pins treatment modalities. (b) Block xenograft used for the Block treatment modality. (c) Collagen membrane applied for the Granulate and the Block treatment modalities. (d) Collagen membrane stabilized by two titanium pins used for the Granulate + Pins treatment modality. (e) Buccal and (f) occlusal view after suturing.

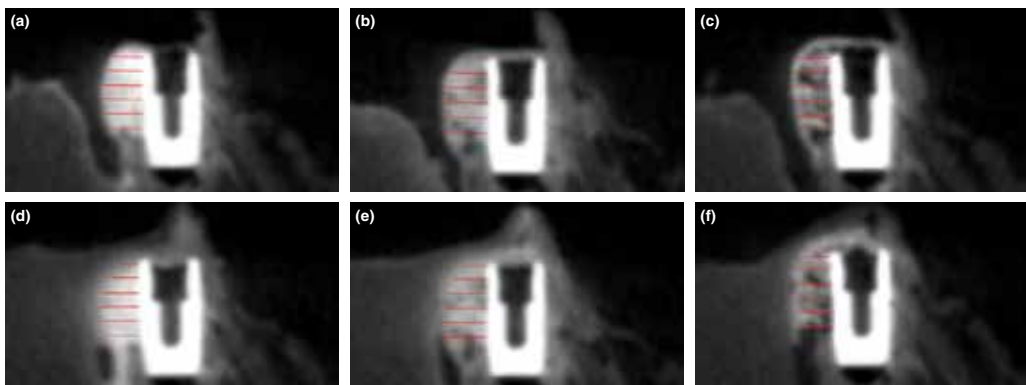


Fig. 3. Bucco-oral CBCT reconstructions with the measurements of the dimensions of the augmented regions ($HT_{0\text{ mm}}-HT_{5\text{ mm}}$). (a) Granulate, (b) Granulate + Pins, and (c) Block treatment procedures before suturing. (d) Granulate, (e) Granulate + Pins, and (f) Block treatment procedures after suturing.

Data analysis

The changes of HT during flap suturing were calculated as absolute (mm) and relative values (%) (SPSS version 20; IBM, Armonk, NY, USA).

Descriptive statistics were computed for all the parameters. For continuous parameters, the data distributions were represented with bar plots and box plots. The data were reported using means, standard deviations (SD), and 95% confidence intervals (CI). The assumption of normality was checked by Kolmogorov–Smirnov and Shapiro–Wilk tests. All the results, with exception of HT_{5 mm} in the Block group, presented a normal distribu-

tion. For discrete variables, the absolute and the relative frequencies were calculated.

Repeated-measures ANOVA was applied to detect differences of HT before suturing and differences of the changes in HT between the treatment procedures. The Greenhouse–Geisser correction was performed when Mauchly's test ruled out sphericity. Results of tests with *P*-values ≤ 0.05 were considered statistically significant. In case of non-normal data distribution, non-parametric paired Wilcoxon test with Bonferroni correction of the significance level was applied to test differences between the treatment procedures. Results of tests with *P*-values ≤ 0.05/

3 = 0.016 were considered statistically significant.

Two weeks after the CBCT image analysis, 10 randomly selected CBCT images were reassessed to test the intra-observer reliability of CBCT measurements. The intra-class correlation coefficient (ICC) for HT_{0 mm}–HT_{5 mm} ranged from 0.973 to 0.989 (95% CI: 0.932–0.996), indicating high intra-examiner agreement.

Results

There were no statistically significant differences in HT before suturing between the treatment procedures (*P* = 0.276) (Table 1a). Suturing of mucosal flaps induced a statistically significant change in HT (*P* = 0.001) (Table 1b). The differences in the change of HT between the GBR procedures reached statistical significance (*P* < 0.001) (Table 1b).

The results of HT before and HT after suturing and the change in HT for different GBR procedures are presented in Tables 2 and 3 and Figs 4 and 5. The change in HT_{0 mm} measured $-42.8 \pm 17.9\%$ (SD) for Granulate, $-22.9 \pm 21.2\%$ (SD) for Granulate + Pins group, and $-20.2 \pm 18.9\%$ (SD) for Block. The alteration of HT_{1 mm} amounted to $-23.4 \pm 11.9\%$ (SD) for Granulate, $-6.9 \pm 12.5\%$ (SD) for Granulate + Pins, and $-10.8 \pm 13.2\%$ (SD) for Block. The reductions of HT_{0 mm} and of HT_{1 mm} were statistically significant in all the treatment groups

Table 1. (a) Results of two-factor repeated-measures ANOVA for horizontal thickness of the augmented region before suturing (baseline) and (b) Results of two- and three-factor repeated-measures ANOVA for horizontal thickness of the augmented region

Factor(s)	Mauchly's sphericity	F	df	<i>P</i> -value*
(a)				
(1) Treatment modality§	0.829	1.153	2	0.328
(2) Apico-coronal level‡	<0.001	41.108	1.749	<0.001†
(1) × (2)	<0.001	1.335	2.390	0.276
(b)				
(1) Treatment modality§	0.674	1.059	2	0.358
(2) Apico-coronal level‡	<0.001	68.531	1.397	<0.001†
(3) Suturing	1	16.124	1	0.001†
(1) × (2)	<0.001	1.826	3	<0.001†
(1) × (3)	0.764	10.398	2	<0.001†
(2) × (3)	0.003	24.780	2.219	<0.001†
(1) × (2) × (3)	<0.001	1.755	2.794	0.172

(1), Treatment modality; (2), Apico-coronal level; (3), Suturing; ×, interactions between the factors; §, GBR procedures; ‡, 0–5 mm apical to the implant shoulder; F, F-Test; df, degrees of freedom; *, results of repeated-measures ANOVA with Greenhouse–Geisser correction; †, statistically significant.

Table 2. Results of horizontal thickness of the augmented region (HT) and change in HT at different apico-coronal levels for (a) Granulate, (b) Granulate + Pins, and (c) Block procedures

Treatment modality	Parameter	Before suturing (mm)		After suturing (mm)		Change (mm)		Change (%)		<i>P</i> -value*
		Mean ± SD	[95% CI]	Mean ± SD	[95% CI]	Mean ± SD	[95% CI]	Mean ± SD	[95% CI]	
(a) Granulate (n = 20)	HT _{0 mm}	2.5 ± 0.6	[2.2; 2.8]	1.4 ± 0.5	[1.1; 1.6]	-1.1 ± 0.5	[-1.3; -0.8]	-42.8 ± 17.9	[-51.2; -34.4]	<0.001†
	HT _{1 mm}	3.0 ± 0.5	[2.8; 3.3]	2.3 ± 0.5	[2.1; 2.6]	-0.7 ± 0.4	[-0.9; -0.5]	-23.4 ± 11.9	[-28.9; -17.8]	<0.001†
	HT _{2 mm}	3.2 ± 0.5	[3.0; 3.5]	2.8 ± 0.5	[2.6; 3.1]	-0.4 ± 0.4	[-0.6; -0.2]	-13.1 ± 12.1	[-18.8; -7.5]	<0.001†
	HT _{3 mm}	3.3 ± 0.5	[3.1; 3.5]	3.0 ± 0.6	[2.8; 3.3]	-0.3 ± 0.4	[-0.5; -0.1]	-7.8 ± 12.4	[-13.6; -1.9]	0.012‡
	HT _{4 mm}	3.2 ± 0.6	[2.9; 3.5]	3.0 ± 0.7	[2.7; 3.3]	-0.2 ± 0.5	[-0.4; 0.0]	-6.6 ± 14.3	[-13.2; 0.1]	0.066
(b) Granulate+Pins (n = 20)	HT _{0 mm}	2.8 ± 0.8	[2.4; 3.2]	2.8 ± 0.9	[2.4; 3.2]	-0.0 ± 0.6	[-0.3; 0.3]	-2.0 ± 34.3	[-14.0; 18.1]	0.881
	HT _{1 mm}	2.1 ± 0.5	[1.9; 2.4]	1.6 ± 0.6	[1.4; 1.9]	-0.5 ± 0.5	[-0.7; -0.3]	-22.9 ± 21.2	[-32.8; -13.0]	<0.001†
	HT _{2 mm}	2.8 ± 0.4	[2.6; 3.0]	2.6 ± 0.3	[2.4; 2.7]	-0.2 ± 0.4	[-0.4; -0.1]	-6.9 ± 12.5	[-12.8; -1.0]	0.012‡
	HT _{3 mm}	3.1 ± 0.4	[2.9; 3.3]	3.0 ± 0.3	[2.9; 3.1]	-0.1 ± 0.3	[-0.2; 0.1]	-0.9 ± 10.5	[-5.8; 4.0]	0.440
	HT _{4 mm}	3.1 ± 0.4	[2.9; 3.3]	3.2 ± 0.3	[3.1; 3.3]	0.1 ± 0.3	[-0.1; 0.2]	3.3 ± 11.0	[-1.8; 8.5]	0.316
(c) Block (n = 18)‡	HT _{0 mm}	3.1 ± 0.5	[2.8; 3.3]	3.1 ± 0.5	[2.9; 3.3]	0.0 ± 0.4	[-0.1; 0.2]	2.2 ± 12.0	[-3.5; 7.8]	0.586
	HT _{1 mm}	2.8 ± 0.6	[2.6; 3.1]	2.9 ± 0.6	[2.6; 3.1]	0.0 ± 0.3	[-0.1; 0.2]	1.6 ± 12.1	[-4.1; 7.3]	0.817
	HT _{2 mm}	2.5 ± 0.6	[2.2; 2.8]	1.9 ± 0.5	[1.7; 2.2]	-0.6 ± 0.5	[-0.8; -0.3]	-20.2 ± 18.9	[-29.6; -10.8]	<0.001†
	HT _{3 mm}	2.9 ± 0.4	[2.8; 3.1]	2.6 ± 0.4	[2.4; 2.8]	-0.3 ± 0.4	[-0.5; -0.1]	-10.8 ± 13.2	[-17.4; -4.3]	0.002‡
	HT _{4 mm}	3.1 ± 0.3	[3.0; 3.3]	3.0 ± 0.4	[2.8; 3.1]	-0.2 ± 0.4	[-0.4; 0.0]	-5.3 ± 11.6	[-11.0; 0.5]	0.050‡
HT _{5 mm}	3.2 ± 0.3	[3.0; 3.4]	3.2 ± 0.3	[3.0; 3.4]	-0.0 ± 0.3	[-0.2; 0.2]	-0.0 ± 9.8	[-4.8; 4.9]	0.856	
HT _{2 mm}	3.2 ± 0.4	[3.0; 3.4]	3.3 ± 0.3	[3.2; 3.4]	0.1 ± 0.3	[-0.1; 0.2]	3.1 ± 10.6	[-2.2; 8.3]	0.330	
HT _{5 mm}	2.9 ± 0.9	[2.4; 3.3]	3.0 ± 0.8	[2.6; 3.4]	0.1 ± 1.1	[-0.4; 0.7]	27.2‡ ± 89.5	[-17.3; 71.7]	0.435‡	

n, number; HT × mm, horizontal thickness of the augmented region measured × mm apical to the implant shoulder; ‡, two samples were excluded for Block procedure due to unclear contour of the augmented region; SD, standard deviation; 95% CI, 95% confidence interval; *, results of repeated measures ANOVA with Greenhouse–Geisser correction; †, statistically significant; ‡, the relative value of 27.2% is driven by an outlier. If the outlier is excluded, the mean relative value of change in HT_{5 mm} for Block amounts to 11.0%; †, results of non-parametric Wilcoxon test.

Table 3. Results of change in horizontal thickness of the augmented region for different treatment procedures together with the results of repeated-measures ANOVA

	Change (mm)			Change (%)			Statistical analysis*
	Granulate (G)	Granulate+Pins (P)	Block (B)	Granulate (G)	Granulate+Pins (P)	Block (B)	
	Mean \pm SD [95% CI]						
HT ₀ mm	-1.1 \pm 0.5 [-1.3; -0.8]	-0.5 \pm 0.4 [-0.7; -0.3]	-0.6 \pm 0.5 [-0.8; -0.3]	-42.8 \pm 17.9 [-51.2; -34.4]	-22.9 \pm 21.2 [-32.8; -13.0]	-20.2 \pm 18.9 [-29.6; -10.8]	G vs. P: $P < 0.001$ † G vs. B: $P = 0.011$ † P vs. B: $P = 0.498$
HT ₁ mm	-0.7 \pm 0.4 [-0.9; -0.5]	-0.2 \pm 0.4 [-0.4; -0.1]	-0.3 \pm 0.4 [-0.5; -0.1]	-23.4 \pm 11.9 [-28.9; -17.8]	-6.9 \pm 12.5 [-12.8; -1.0]	-10.8 \pm 13.2 [-17.4; -4.3]	G vs. P: $P < 0.001$ † G vs. B: $P = 0.004$ † P vs. B: $P = 0.210$
HT ₂ mm	-0.4 \pm 0.4 [-0.6; -0.2]	-0.1 \pm 0.3 [-0.2; 0.1]	-0.2 \pm 0.4 [-0.4; 0.0]	-13.1 \pm 12.1 [-18.8; -7.5]	-0.9 \pm 10.5 [-5.8; 4.0]	-5.3 \pm 11.6 [-11.0; 0.5]	G vs. P: $P = 0.001$ † G vs. B: $P = 0.008$ † P vs. B: $P = 0.216$
HT ₃ mm	-0.3 \pm 0.4 [-0.5; -0.1]	0.1 \pm 0.3 [-0.1; 0.2]	0.0 \pm 0.3 [-0.2; 0.2]	-7.8 \pm 12.4 [-13.6; -1.9]	3.3 \pm 11.0 [-1.8; 8.5]	0.0 \pm 9.8 [-4.8; 4.9]	G vs. P: $P = 0.007$ † G vs. B: $P = 0.013$ † P vs. B: $P = 0.362$
HT ₄ mm	-0.2 \pm 0.5 [-0.4; 0.0]	0.0 \pm 0.4 [-0.1; 0.2]	0.1 \pm 0.3 [-0.1; 0.2]	-6.6 \pm 14.3 [-13.2; 0.1]	2.2 \pm 12.0 [-3.5; 7.8]	3.1 \pm 10.6 [-2.2; 8.3]	G vs. P: $P = 0.132$ G vs. B: $P = 0.034$ † P vs. B: $P = 0.913$
HT ₅ mm	0.0 \pm 0.6 [-0.3; 0.3]	0.0 \pm 0.3 [-0.1; 0.2]	0.1 \pm 1.1 [-0.4; 0.7]	-2.0 \pm 34.3 [-14.0; 18.1]	1.6 \pm 12.1 [-4.1; 7.3]	27.2‡ \pm 89.5 [-17.3; 71.7]	G vs. P: $P = 0.867$ G vs. B: $P = 0.862$ § P vs. B: $P = 0.760$ §

HT \times mm, horizontal thickness of the augmented region measured \times mm apical to the implant shoulder; SD, standard deviation; 95% CI, 95% confidence interval; *, results of repeated measures ANOVA with Greenhouse-Geisser correction; †, statistically significant; ‡, the relative value of 27.2 % is driven by an outlier. If the outlier is excluded, the mean relative value of change in HT5mm for Block amounts to 11.0 %; §, results of non-parametric Wilcoxon test.

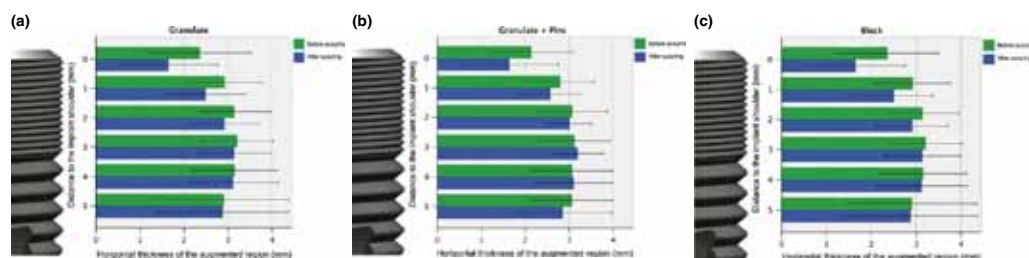


Fig. 4. Bar plots representing the horizontal thicknesses of the augmented regions at different apico-coronal levels (HT₀ mm–HT₅ mm) before and after suturing for (a) Granulate, (b) Granulate + Pins, and (c) Block treatment procedures. Error lines represent ± 2 standard deviations.

(Granulate HT₀ mm, $P < 0.001$, Granulate HT₁ mm, $P < 0.001$; Granulate + Pins HT₀ mm, $P < 0.001$, Granulate + Pins HT₁ mm, $P = 0.012$; Block HT₀ mm, $P < 0.001$, Block HT₁ mm, $P = 0.002$). The reduction of HT₂ mm reached statistical significance for Granulate and Block (Granulate HT₂ mm, $P < 0.001$; Block HT₂ mm, $P = 0.05$). The reduction of HT₃ mm and of HT₄ mm was statistically significant only for Granulate (Granulate HT₃ mm, $P < 0.001$, Granulate HT₄ mm, $P = 0.012$) (Table 2; Fig. 4).

The differences in the changes of HT₀ mm, HT₁ mm, HT₂ mm, and HT₃ mm between Granulate and Granulate + Pins (HT₀ mm, $P < 0.001$; HT₁ mm, $P < 0.001$; HT₂ mm, $P = 0.001$; HT₃ mm, $P = 0.007$) and between Granulate and Block (HT₀ mm, $P = 0.011$; HT₁ mm, $P = 0.004$; HT₂ mm, $P = 0.008$; HT₃ mm, $P = 0.013$) reached statistical significance. There were no statisti-

cally significant differences in the change of HT between Granulate + Pins and Block (HT₀ mm, $P = 0.498$; HT₁ mm, $P = 0.210$; HT₂ mm, $P = 0.216$; HT₃ mm, $P = 0.362$; HT₄ mm, $P = 0.913$; HT₅ mm, $P = 0.760$) (Table 3; Fig. 5).

The results regarding the presence of voids within the augmented region are presented in Table 4. The majority of the voids were detected in Block group at 3 and 4 mm apical to the implant shoulder (Table 4).

Discussion

In the present *in vitro* study, suturing of mucosal flaps after GBR of peri-implant bone defects induced a considerable displacement of particulated grafting material, resulting in a partial collapse of collagen membrane. The displacement of the grafting material and of

the membrane was mostly pronounced in the coronal portion of the augmented site at the level of the implant shoulder. These results demonstrate that, even though a clinically tension-free flap closure was achieved in all cases, compressive forces on the coronal portion of the augmented site during suturing could not be totally avoided.

The use of fixation pins in combination with particulated bone substitute and collagen membrane and the application of block bone substitute with collagen membrane performed significantly better with regard to the dimensional stability of the augmented site, as compared to GBR by means of particulated bone substitute and collagen membrane. The additional use of fixation pins or the use of block instead of particulated grafting material permitted to reduce the amount of membrane

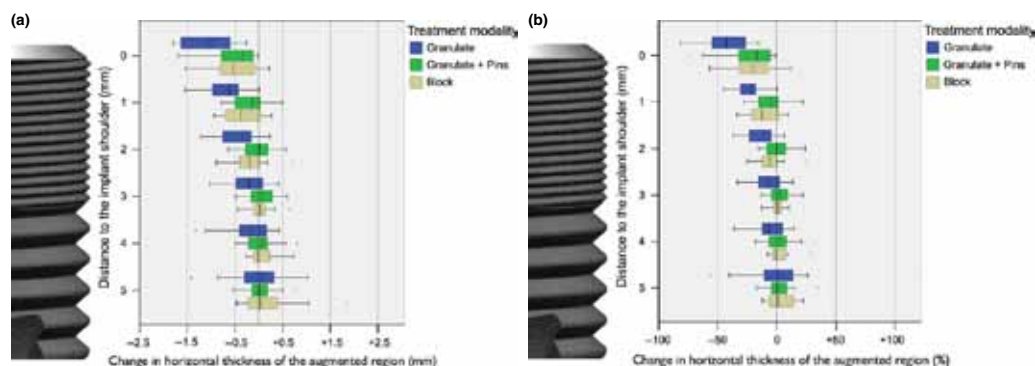


Fig. 5. Box plots representing the changes of horizontal thicknesses of the augmented regions during suturing for Granulate, Granulate + Pins, and Block treatment procedures (a) in mm and (b) in %. \circ and $*$ in the figure represent the outliers. One outlier value of HT_{5 mm} for the Block procedure is not represented.

Table 4. Frequency of appearance of voids ≥ 0.5 mm within the augmented region in CBCT images

Apico-coronal level*	Granulate		Granulate+Pins		Block	
	Before suturing	After suturing	Before suturing	After suturing	Before suturing	After suturing
0 mm	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)
1 mm	5% (1/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)
2 mm	0% (0/20)	0% (0/20)	5% (1/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	5% (1/20)
3 mm	10% (2/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	20% (4/20)	35% (7/20)
4 mm	5% (1/20)	0% (0/20)	5% (1/20)	0% (0/20)	15% (3/20)	25% (5/20)
5 mm	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)	0% (0/20)

*Distance to the implant shoulder measured parallel to implant axis in the apical direction.

collapse at the level of implant shoulder by more than 50% (from -1.1 mm to -0.5 mm). These results show that the stability of the augmented site can be enhanced either by stabilizing the barrier membrane or by providing adequate support to the membrane through a stable bone substitute.

In the present study, the use of pins for membrane fixation considerably facilitated the clinical handling during GBR. The adaptation of the membrane and the stabilization of the grafting material in the desired position were enhanced through the application of two fixation pins apical to the bone defect.

In a previous clinical study, GBR procedures with resorbable or non-resorbable membranes were performed with or without the use of polylactide pins (Carpio et al. 2000). When membrane fixation was provided, a significantly higher success of GBR was found in terms of frequency of postoperative complications and reduction in the size of the peri-implant defects, as compared to GBR without membrane fixation. There is, however, limited evidence available about the effect of the use of pins for membrane stabilization on the three-dimensional stability of jaw regions augmented by means of GBR (Benic & Hämmerle 2014). Currently,

the routine use of fixation pins is not generally recommended in combination with collagen membranes (Buser 2009).

In the present investigation, the use of block bone substitute for GBR was associated with an enhanced dimensional stability of the augmented site, as compared to GBR with particulated grafting material. The clinical handling of DBBM block was, however, frequently associated with intra-operative complications, such as block fracture during the preparation and the adaptation to the defect. In case of fracture, a new block was prepared. The frequent presence of voids in the augmented region in CBCT images can be explained by the difficulty in achieving an accurate fit of the block within the bone defect. DBBM blocks were not stabilized with fixation screws. The reduction of HT in the coronal region and the similar percentage of HT increase in the apical area can be explained by the rotation of the block within the defect. Moreover, this fact explains the occurrence of the outlier values of change in HT in the apical region of the defect and the increase in the frequency of voids for the Block procedure.

There are only limited clinical data reporting on the application of DBBM block in

combination with collagen membrane for GBR. In a clinical study, DBBM blocks and collagen membranes were applied to 12 patients to treat horizontal bone defects before implant placement (Hämmerle et al. 2008). After 9–10 months, in 11 of 12 patients the resulting bone volume was sufficient to allow implant placement in the prosthetically optimal position. It was therefore concluded that the procedure was effective for horizontal ridge augmentation. These results are in agreement with a preclinical study comparing autogenous bone blocks with DBBM blocks for horizontal ridge augmentation, in which a similar increase of ridge width was clinically measured in both groups (De Santis et al. 2012). In fact, 3 months after GBR all sites treated with DBBM blocks appeared, clinically, to be suitable for implant placement. Histologically, however, several studies found that DBBM blocks were mainly embedded in connective tissue and only a moderate amount of new bone formation was observed in peripheral parts of the graft (Schwarz et al. 2008, 2010; De Santis et al. 2012).

In the present trial, an attempt to mimic the clinical situation of implant placement with simultaneous GBR was made. An

in vitro model based on box-shaped peri-implant bone defects in pig mandibles was used for this purpose. The self-contained component of the peri-implant defect measured 1 mm in the bucco-oral direction. An over-augmentation of the dehiscence defect is generally recommended when using particulated grafting material and non-stable membranes, to compensate for the displacement of parts of the grafting materials (Benic & Hämmerle 2014). Bone substitutes were therefore applied in an attempt to achieve 1 mm of over-contour with respect to the buccal surface of the alveolar ridge.

A limitation of the present study was its *in vitro* setup, which only partially simulated a clinical situation of GBR at peri-implant defects. Blood clot formation could not be reproduced in such an *in vitro* setup. However, even though coagulation plays a role in the early healing, it cannot prevent the displacement of the bone substitute during wound closure. On the other hand, the *in vitro* model allowed standardizing the design of the mucosal flap, the morphology of the bone defect, and the clinical procedures (e.g., amount of bone substitute, suturing technique). It was therefore possible to reduce the influence of confounding factors on the result of the procedures under investigation. Moreover, every site was treated once with each one of the three GBR procedures under investigation. This allowed further reducing the amount of the confounding factors, in particular the flap tension. Finally, one clinician, who was blinded and unaware of the aim of the

study, performed the standardized wound closure to eliminate the operator's bias.

The clinical decision-making regarding the choice of the optimal bone augmentation protocol and the selection of the materials is primarily based on the defect morphology and on whether or not the ridge contour needs to be augmented (Benic & Hämmerle 2014). Based on the data of the present study, it can be deduced that a partial collapse of the barrier membrane can be expected for augmentations performed with particulated bone substitutes and collagen membrane. Therefore, when using particulated bone substitutes and non-stable membranes, an over-augmentation of the defect is recommended to compensate for material displacement. In situations requiring an enhanced stability of the augmented site, the use of pins for membrane stabilization is recommended. GBR by means of customized DBBM blocks is to be considered a promising approach to provide an adequate support of the membrane.

Further investigations are needed to examine the clinical implications of the findings of the present study. Future research should determine the need for augmentation procedures regarding the long-term success of the implants. In addition, the long-term stability of the augmented bone should be assessed and monitored.

Conclusions

Within the limitations of the present *in vitro* study, it can be concluded that for GBR of peri-implant bone defects:

- Manipulation of mucosal flaps during suturing induced a displacement of bone substitute, resulting in a partial collapse of collagen membrane in the coronal portion of the augmented site.
- The primary stability of particulated bone substitute covered with collagen membrane was enhanced by applying pins for the fixation of the membrane.
- Block bone substitute in combination with collagen membrane performed significantly better than particulated bone substitute covered with collagen membrane in terms of dimensional stability of the augmented site during flap suturing.

Acknowledgements: The investigators gratefully acknowledge Malgorzata Roos, Ph.D. (Department of Biostatistics, University of Zurich, Zurich, Switzerland), Dr. Caroline Lustenberger (Clinic of Fixed and Removable Prosthodontics and Dental Material Science, Center of Dental Medicine, University of Zurich, Switzerland), and Eduard Valmaseda-Castellón, Ph.D. (Department of Oral Surgery and Implantology, University of Barcelona, Spain) for assistance in analyzing the data. This study was supported by the Clinic of Fixed and Removable Prosthodontics and Dental Material Science, Center of Dental Medicine, University of Zurich, Switzerland. The implants were kindly provided by DENTSPLY Implants.

References

- Becker, W., Becker, B.E., Handelsman, M., Ochsenbein, C. & Albrektsson, T. (1991) Guided tissue regeneration for implants placed into extraction sockets: a study in dogs. *Journal of Periodontology* **62**: 703–709.
- Benic, G.I. & Hämmerle, C.H. (2014) Horizontal bone augmentation by means of guided bone regeneration. *Periodontology* **2000** **66**: 13–40.
- Benic, G.I., Jung, R.E., Siegenthaler, D.W. & Hämmerle, C.H. (2009) Clinical and radiographic comparison of implants in regenerated or native bone: 5-year results. *Clinical Oral Implants Research* **20**: 507–513.
- Benic, G.I., Sancho-Puchades, M., Jung, R.E., Deyhle, H. & Hämmerle, C.H. (2013) In vitro assessment of artifacts induced by titanium dental implants in cone beam computed tomography. *Clinical Oral Implants Research* **24**: 378–383.
- Buser, D. (2009) Implant placement with simultaneous guided bone regeneration: selection of biomaterials and surgical principles. In: Buser, D., ed. *20 Years of Guided Bone Regeneration in Implant Dentistry*, 2nd edition, 128. Chicago: Quintessence Books.
- Carpio, L., Loza, J., Lynch, S. & Genco, R. (2000) Guided bone regeneration around endosseous implants with anorganic bovine bone mineral. A randomized controlled trial comparing bioabsorbable versus non-resorbable barriers. *Journal of Periodontology* **71**: 1743–1749.
- Chiapasco, M. & Zaniboni, M. (2009) Clinical outcomes of GBR procedures to correct peri-implant dehiscences and fenestrations: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research* **20**: 113–123.
- De Santis, E., Lang, N.P., Scala, A., Vignano, P., Salata, L.A. & Botticelli, D. (2012) Healing outcomes at implants installed in grafted sites: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **23**: 340–350.
- Hämmerle, C.H., Jung, R.E., Yaman, D. & Lang, N.P. (2008) Ridge augmentation by applying bioresorbable membranes and deproteinized bovine bone mineral: a report of twelve consecutive cases. *Clinical Oral Implants Research* **19**: 19–25.
- Jensen, S.S. & Terheyden, H. (2009) Bone augmentation procedures in localized defects in the alveolar ridge: clinical results with different bone grafts and bone-substitute materials. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **24**(Suppl.): 218–236.
- Jung, R.E., Fenner, N., Hämmerle, C.H. & Zitzmann, N.U. (2013) Long-term outcome of implants placed with guided bone regeneration (GBR) using resorbable and non-resorbable membranes after 12 to 14 years. *Clinical Oral Implants Research* **24**: 1065–1073.
- Kohal, R.J., Trejo, P.M., Wirsching, C., Hürzeler, M.B. & Caffesse, R.G. (1999) Comparison of bioabsorbable and bioinert membranes for guided bone regeneration around non-submerged implants. An experimental study in the mongrel dog. *Clinical Oral Implants Research* **10**: 226–237.

- Lorenzoni, M., Pertl, C., Keil, C. & Wegscheider, W.A. (1998) Treatment of peri-implant defects with guided bone regeneration: a comparative clinical study with various membranes and bone grafts. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **13**: 639–646.
- Mayfield, L., Skoglund, A., Nobreus, N. & Attstrom, R. (1998) Clinical and radiographic evaluation, following delivery of fixed reconstructions, at GBR treated titanium fixtures. *Clinical Oral Implants Research* **9**: 292–302.
- Mellonig, J.T., Nevins, M. & Sanchez, R. (1998) Evaluation of a bioabsorbable physical barrier for guided bone regeneration. Part I. Material alone. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry* **18**: 139–149.
- Palmer, R.M., Smith, B.J., Palmer, P.J., Floyd, P.D., Johansson, C.B. & Albrektsson, T. (1998) Effect of loading on bone regenerated at implant dehiscence sites in humans. *Clinical Oral Implants Research* **9**: 283–291.
- Schwarz, F., Ferrari, D., Balic, E., Buser, D., Becker, J. & Sager, M. (2010) Lateral ridge augmentation using equine- and bovine-derived cancellous bone blocks: a feasibility study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **21**: 904–912.
- Schwarz, F., Herten, M., Ferrari, D., Wieland, M., Schmitz, L., Engelhardt, E. & Becker, J. (2007) Guided bone regeneration at dehiscence-type defects using biphasic hydroxyapatite + beta tricalcium phosphate (Bone Ceramic) or a collagen-coated natural bone mineral (BioOss Collagen): an immunohistochemical study in dogs. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **36**: 1198–1206.
- Schwarz, F., Rothamel, D., Herten, M., Ferrari, D., Sager, M. & Becker, J. (2008) Lateral ridge augmentation using particulated or block bone substitutes biocoated with rhGDF-5 and rhBMP-2: an immunohistochemical study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **19**: 642–652.
- Strietzel, F.P., Khongkhunthian, P., Khattiya, R., Patchanee, P. & Reichart, P.A. (2006) Healing pattern of bone defects covered by different membrane types—a histologic study in the porcine mandible. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* **78**: 35–46.
- 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.): 1–21.
- Von Arx, T., Cochran, D.L., Hermann, J.S., Schenk, R.K. & Buser, D. (2001) Lateral ridge augmentation using different bone fillers and barrier membrane application. A histologic and histomorphometric pilot study in the canine mandible. *Clinical Oral Implants Research* **12**: 260–269.
- Warrer, L., Gotfredsen, K., Hjørtting-Hansen, E. & Karring, T. (1991) Guided tissue regeneration ensures osseointegration of dental implants placed into extraction sockets. An experimental study in monkeys. *Clinical Oral Implants Research* **2**: 166–171.
- 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. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **13**: 333–341.
- Zellin, G., Critti-Linde, A. & Linde, A. (1995) Healing of mandibular defects with different biodegradable and non-biodegradable membranes: an experimental study in rats. *Biomaterials* **16**: 601–609.
- Zitzmann, N.U., Schärer, P. & Marinello, C.P. (1999) Factors influencing the success of GBR. Smoking, timing of implant placement, implant location, bone quality and provisional restoration. *Journal of Clinical Periodontology* **26**: 673–682.
- Zitzmann, N.U., Schärer, P. & Marinello, C.P. (2001) Long-term results of implants treated with guided bone regeneration: a 5-year prospective study. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **16**: 355–366.
- Zumstein, T., Billstrom, C. & Sennerby, L. (2012) A 4- to 5-year retrospective clinical and radiographic study of neoss implants placed with or without GBR procedures. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* **14**: 480–490.

Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

Table S1. Results of horizontal thickness of the augmented region (HT) and change in HT at different apico-coronal levels for (a) Granulate, (b) Granulate + Pins, and (c) Block procedures.

Table S2. Results of change in horizontal thickness of the augmented region for different treatment procedures together with the results of repeated-measures ANOVA.

ESTUDIO II

Influencia del cierre del colgajo en la estabilidad dimensional de la ROG mediante materiales particulados o no particulados: estudio in vitro mediante tomografía computada de haz cónico. Parte II.

Referencia completa del artículo:

Mir-Mari, J., Benic, G.I., Valmaseda-Castellón, E., Hämmerle, C.H. & Jung, R.E. (2016) Influence of wound closure on the volume stability of particulate and non particulate GBR materials: an in vitro cone-beam computed tomographic examination. Part II. *Clinical Oral Implants Research* 00, 1-9 [Epub ahead of print]

Detalles del trabajo:

- Revista de publicación: Clinical Oral Implants Research
- Factor de Impacto de la revista: 3,464.
- ISI Journal Citation Reports © Ranking: 2015: 7/89 (Dentistry Oral Surgery & Medicine); 11/76 (Engineering Biomedical)
- Fecha de aceptación: 6 Marzo del 2016
- Fecha publicación online: 6 de Abril del 2016
- Fecha de asignación de volumen: pendiente de asignación
- DOI: 10.1111/clr.12845
- Autores: Mir-Mari, Javier¹; Benic, Goran I.²; Valmaseda-Castellón, Eduard¹; Hämmerle, Christoph H.F.²; Jung, Ronald E.²
- Información sobre los autores:
 - ¹ Unidad de Cirugía Bucal e Implantología, Facultad de Odontología, Universidad de Barcelona, España
 - ² Clínica de Prótesis Fija y Removible y Ciencias de los Materiales Dentales, Centro de Medicina Dental, Universidad de Zúrich, Zúrich, Suiza.

PERMISO DE REPRODUCCIÓN

JOHN WILEY AND SONS LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Oct 29, 2016

This Agreement between Javier Mir ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

License Number	3975810352138
License date	Oct 25, 2016
Licensed Content Publisher	John Wiley and Sons
Licensed Content Publication	Clinical Oral Implants Research
Licensed Content Title	Influence of wound closure on the volume stability of particulate and non-particulate GBR materials: an in vitro cone-beam computed tomographic examination. Part II
Licensed Content Author	Javier Mir-Mari,Goran I. Benic,Eduard Valmaseda-Castellón,Christoph H.F. Hämmerle,Ronald E. Jung
Licensed Content Date	Apr 6, 2016
Licensed Content Pages	1
Type of use	Dissertation/Thesis
Requestor type	Author of this Wiley article
Format	Print and electronic
Portion	Full article
Will you be translating?	Yes, including English rights
Number of languages	1
Languages	Spanish
Title of your thesis / dissertation	Influence of the wound closure and surgical technique on the primary dimensional stability of the guided bone regeneration. An in vitro cone-beam computed tomographic examination
Expected completion date	Feb 2017
Expected size (number of pages)	100
Requestor Location	Javier Mir-Mari C/Miguel de Veri, 8A Mahón (Menorca), 07712 Spain Attn: Javier Mir-Mari
Publisher Tax ID	EU826007151
Billing Type	Invoice
Billing Address	Javier Mir-Mari C/Miguel de Veri, 8A Mahón (Menorca), Spain 07712 Attn: Javier Mir-Mari

Total 0.00 EUR

Terms and Conditions

TERMS AND CONDITIONS

This copyrighted material is owned by or exclusively licensed to John Wiley & Sons, Inc. or one of its group companies (each a "Wiley Company") or handled on behalf of a society with which a Wiley Company has exclusive publishing rights in relation to a particular work (collectively "WILEY"). By clicking "accept" in connection with completing this licensing transaction, you agree that the following terms and conditions apply to this transaction (along with the billing and payment terms and conditions established by the Copyright Clearance Center Inc., ("CCC's Billing and Payment terms and conditions"), at the time that you opened your RightsLink account (these are available at any time at <http://myaccount.copyright.com>).

Terms and Conditions

- The materials you have requested permission to reproduce or reuse (the "Wiley Materials") are protected by copyright.
- You are hereby granted a personal, non-exclusive, non-sub licensable (on a stand-alone basis), non-transferable, worldwide, limited license to reproduce the Wiley Materials for the purpose specified in the licensing process. This license, and any CONTENT (PDF or image file) purchased as part of your order, is for a one-time use only and limited to any maximum distribution number specified in the license. The first instance of republication or reuse granted by this license must be completed within two years of the date of the grant of this license (although copies prepared before the end date may be distributed thereafter). The Wiley Materials shall not be used in any other manner or for any other purpose, beyond what is granted in the license. Permission is granted subject to an appropriate acknowledgement given to the author, title of the material/book/journal and the publisher. You shall also duplicate the copyright notice that appears in the Wiley publication in your use of the Wiley Material. Permission is also granted on the understanding that nowhere in the text is a previously published source acknowledged for all or part of this Wiley Material. Any third party content is expressly excluded from this permission.
- With respect to the Wiley Materials, all rights are reserved. Except as expressly granted by the terms of the license, no part of the Wiley Materials may be copied, modified, adapted (except for minor reformatting required by the new Publication), translated, reproduced, transferred or distributed, in any form or by any means, and no derivative works may be made based on the Wiley Materials without the prior permission of the respective copyright owner. For STM Signatory Publishers clearing permission under the terms of the STM Permissions Guidelines only, the terms of the license are extended to include subsequent editions and for editions in other languages, provided such editions are for the work as a whole in situ and does not involve the separate exploitation of the permitted figures or extracts, You may not alter, remove or suppress in any manner any copyright, trademark or other notices displayed by the Wiley Materials. You may not license, rent, sell, loan, lease, pledge, offer as security, transfer or assign the Wiley Materials on a stand-alone basis, or any of the rights granted to you hereunder to any other person.
- The Wiley Materials and all of the intellectual property rights therein shall at all times remain the exclusive property of John Wiley & Sons Inc, the Wiley Companies, or their respective licensors, and your interest therein is only that of having possession of and the right to reproduce the Wiley Materials pursuant to Section 2 herein during the

continuance of this Agreement. You agree that you own no right, title or interest in or to the Wiley Materials or any of the intellectual property rights therein. You shall have no rights hereunder other than the license as provided for above in Section 2. No right, license or interest to any trademark, trade name, service mark or other branding ("Marks") of WILEY or its licensors is granted hereunder, and you agree that you shall not assert any such right, license or interest with respect thereto

- NEITHER WILEY NOR ITS LICENSORS MAKES ANY WARRANTY OR REPRESENTATION OF ANY KIND TO YOU OR ANY THIRD PARTY, EXPRESS, IMPLIED OR STATUTORY, WITH RESPECT TO THE MATERIALS OR THE ACCURACY OF ANY INFORMATION CONTAINED IN THE MATERIALS, INCLUDING, WITHOUT LIMITATION, ANY IMPLIED WARRANTY OF MERCHANTABILITY, ACCURACY, SATISFACTORY QUALITY, FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE, USABILITY, INTEGRATION OR NON-INFRINGEMENT AND ALL SUCH WARRANTIES ARE HEREBY EXCLUDED BY WILEY AND ITS LICENSORS AND WAIVED BY YOU.
- WILEY shall have the right to terminate this Agreement immediately upon breach of this Agreement by you.
- You shall indemnify, defend and hold harmless WILEY, its Licensors and their respective directors, officers, agents and employees, from and against any actual or threatened claims, demands, causes of action or proceedings arising from any breach of this Agreement by you.
- IN NO EVENT SHALL WILEY OR ITS LICENSORS BE LIABLE TO YOU OR ANY OTHER PARTY OR ANY OTHER PERSON OR ENTITY FOR ANY SPECIAL, CONSEQUENTIAL, INCIDENTAL, INDIRECT, EXEMPLARY OR PUNITIVE DAMAGES, HOWEVER CAUSED, ARISING OUT OF OR IN CONNECTION WITH THE DOWNLOADING, PROVISIONING, VIEWING OR USE OF THE MATERIALS REGARDLESS OF THE FORM OF ACTION, WHETHER FOR BREACH OF CONTRACT, BREACH OF WARRANTY, TORT, NEGLIGENCE, INFRINGEMENT OR OTHERWISE (INCLUDING, WITHOUT LIMITATION, DAMAGES BASED ON LOSS OF PROFITS, DATA, FILES, USE, BUSINESS OPPORTUNITY OR CLAIMS OF THIRD PARTIES), AND WHETHER OR NOT THE PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES. THIS LIMITATION SHALL APPLY NOTWITHSTANDING ANY FAILURE OF ESSENTIAL PURPOSE OF ANY LIMITED REMEDY PROVIDED HEREIN.
- Should any provision of this Agreement be held by a court of competent jurisdiction to be illegal, invalid, or unenforceable, that provision shall be deemed amended to achieve as nearly as possible the same economic effect as the original provision, and the legality, validity and enforceability of the remaining provisions of this Agreement shall not be affected or impaired thereby.
- The failure of either party to enforce any term or condition of this Agreement shall not constitute a waiver of either party's right to enforce each and every term and condition of this Agreement. No breach under this agreement shall be deemed waived or excused by either party unless such waiver or consent is in writing signed by the party granting such waiver or consent. The waiver by or consent of a party to a breach of any provision of this Agreement shall not operate or be construed as a waiver of or consent to any other or subsequent breach by such other party.

- This Agreement may not be assigned (including by operation of law or otherwise) by you without WILEY's prior written consent.
- Any fee required for this permission shall be non-refundable after thirty (30) days from receipt by the CCC.
- These terms and conditions together with CCC's Billing and Payment terms and conditions (which are incorporated herein) form the entire agreement between you and WILEY concerning this licensing transaction and (in the absence of fraud) supersedes all prior agreements and representations of the parties, oral or written. This Agreement may not be amended except in writing signed by both parties. This Agreement shall be binding upon and inure to the benefit of the parties' successors, legal representatives, and authorized assigns.
- In the event of any conflict between your obligations established by these terms and conditions and those established by CCC's Billing and Payment terms and conditions, these terms and conditions shall prevail.
- WILEY expressly reserves all rights not specifically granted in the combination of (i) the license details provided by you and accepted in the course of this licensing transaction, (ii) these terms and conditions and (iii) CCC's Billing and Payment terms and conditions.
- This Agreement will be void if the Type of Use, Format, Circulation, or Requestor Type was misrepresented during the licensing process.
- This Agreement shall be governed by and construed in accordance with the laws of the State of New York, USA, without regards to such state's conflict of law rules. Any legal action, suit or proceeding arising out of or relating to these Terms and Conditions or the breach thereof shall be instituted in a court of competent jurisdiction in New York County in the State of New York in the United States of America and each party hereby consents and submits to the personal jurisdiction of such court, waives any objection to venue in such court and consents to service of process by registered or certified mail, return receipt requested, at the last known address of such party.

WILEY OPEN ACCESS TERMS AND CONDITIONS

Wiley Publishes Open Access Articles in fully Open Access Journals and in Subscription journals offering Online Open. Although most of the fully Open Access journals publish open access articles under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY) License only, the subscription journals and a few of the Open Access Journals offer a choice of Creative Commons Licenses. The license type is clearly identified on the article.

The Creative Commons Attribution License

The Creative Commons Attribution License (CC-BY) allows users to copy, distribute and transmit an article, adapt the article and make commercial use of the article. The CC-BY license permits commercial and non-

Creative Commons Attribution Non-Commercial License

The Creative Commons Attribution Non-Commercial (CC-BY-NC) License permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.(see below)

Creative Commons Attribution-Non-Commercial-NoDerivs License

The Creative Commons Attribution Non-Commercial-NoDerivs License (CC-BY-NC-ND)

permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, is not used for commercial purposes and no modifications or adaptations are made. (see below)

Use by commercial "for-profit" organizations

Use of Wiley Open Access articles for commercial, promotional, or marketing purposes requires further explicit permission from Wiley and will be subject to a fee.

Further details can be found on Wiley Online Library

<http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-410895.html>

Other Terms and Conditions:

v1.10 Last updated September 2015

Questions? customercare@copyright.com or +1-855-239-3415 (toll free in the US) or +1-978-646-2777.

PUBLICACIÓN ORIGINAL

CLINICAL ORAL IMPLANTS RESEARCH

Javier Mir-Mari
Goran I. Benic
Eduard Valmaseda-Castellón
Christoph H.F. Hämmerle
Ronald E. Jung

Influence of wound closure on the volume stability of particulate and non-particulate GBR materials: an *in vitro* cone-beam computed tomographic examination. Part II

Authors' affiliations:

Javier Mir-Mari, Eduard Valmaseda-Castellón, Oral Surgery and Implantology Department, Dental School, University of Barcelona, Barcelona, Spain
Goran I. Benic, Christoph H.F. Hämmerle, Ronald E. Jung, Clinic of Fixed and Removable Prosthodontics and Dental Material Science, Center of Dental Medicine, University of Zurich, Zurich, Switzerland

Corresponding author:

Dr. Javier Mir-Mari
Facultat d'Odontologia - Universitat de Barcelona
Campus de Bellvitge Pavelló de Govern 2a planta,
Despatx 2.9
08907 L'Hospitalet de Llobregat, Spain
Tel.: +34 93 402 4274
e-mail: jmir mari@gmail.com

Key words: alveolar ridge augmentation, bone, bone substitutes, collagen, cone-beam computed tomography, dental implants, graft, granulate, guided bone regeneration, guided tissue regeneration, *in vitro*, membrane, pin, regeneration, soft block, tack

Abstract

Objectives: To test whether GBR with an L-shaped soft-block bone substitute and particulate bone substitute differs from GBR with particulate bone substitute as regards the volume stability of the augmented region during flap closure.

Materials and methods: Twenty peri-implant box-shaped bone defects were created in 10 pig mandibles. Every bone defect was augmented with each of the following two GBR procedures in turn: control group – particulate xenograft applied buccally + collagen membrane + pins; test group – particulate xenograft applied buccally + L-shaped soft-block xenograft applied buccally and occlusally + collagen membrane + pins. Cone-beam computed tomography scans were obtained before and after wound closure. The horizontal thickness (HT) of the augmented region (bone substitute + membrane) was assessed at the implant shoulder (HT_{0 mm}) and at 1 mm to 5 mm apical to the implant shoulder (HT_{1 mm}–HT_{5 mm}). In the test group, the vertical thickness (VT) and 45° thickness (45-T) of the augmented region were measured from the implant shoulder. The changes in HT during flap suturing were calculated as absolute (mm) and relative values (%). Repeated-measures ANOVAs were used for statistical analysis.

Results: The reduction in HT_{0 mm} was 20.5 ± 23.3% (SD) in the control group and 2.4 ± 9.2% (SD) in the test group ($P = 0.014$). There were no statistically significant differences in changes in HT_{1-5 mm} between the groups ($P > 0.05$). In the test group, the reduction in VT amounted to 28.0 ± 11.9% (SD) and the reduction in 45-T amounted to 24.8 ± 10.2% (SD) ($P < 0.001$).

Conclusion: The addition of an L-shaped soft-block bone substitute to a particulate xenograft, covered by a collagen membrane and fixed with pins, significantly improved the horizontal volume stability of the augmented region during wound closure.

Guided bone regeneration (GBR) in combination with simultaneous implant placement has become a routine treatment approach in implantology. This procedure allows recovery of an adequate bone anatomy and prosthetically driven dental implant positioning (Benic & Hämmerle 2014). Consistent, reliable bone regeneration using a granular demineralized bovine bone mineral (DBBM) in combination with a resorbable collagen membrane has been reported (Benic et al. 2009; Zumstein et al. 2012; Jung et al. 2013a; Jung et al. 2015). Despite these good GBR results, the mechanical properties and clinical behaviour of the augmented region during wound closure and healing are still not well known.

Primary stability of the bone graft is a prerequisite for the success of GBR. Defect anatomy, mechanical characteristics of the filling material and flap closure manoeuvres (Lorenzoni et al. 1998; Zitzmann et al. 1999; Carpio et al. 2000; von Arx et al. 2001) are some of the features that have been related to the initial stability of the augmented region. The first part of the present research showed significant material displacement due to compression during wound closure (Mir-Mari et al. 2016) and compared different GBR approaches, revealing that applying fixation pins and using block bone substitute instead of a particulate grafting material significantly

Date:

Accepted 6 March 2016

To cite this article:

Mir-Mari J, Benic GI, Valmaseda-Castellón E, Hämmerle CHF, Jung RE. Influence of wound closure on the volume stability of particulate and non-particulate GBR materials: an *in vitro* cone-beam computed tomographic examination. Part II. *Clin. Oral Impl. Res.* 00, 2016, 1–9
doi: 10.1111/clr.12845

enhanced the volume stability of the augmented region.

A variety of strategies have been proposed to avoid material displacement. The primary stability of the GBR materials can be increased either by improving the mechanical properties of the membrane or by enhancing the dimensional stability of the bone graft. The use of non-resorbable titanium-reinforced membranes is one of the most-documented options for this purpose [Dahlin et al. 1995; Fugazotto 1997; Zitzmann et al. 1997]. However, the main clinical drawback associated with non-resorbable membranes is the high risk of mucosal dehiscences and infectious complications [Chiapasco & Zaniboni 2009]. The use of one-piece bone blocks instead of granular bone substitutes has been proved to reduce material displacement and compensate for compression during suture [Mir-Mari et al. 2016].

Despite the excellent mechanical properties of block grafts, clinical handling and precise adaptation to the peri-implant defect can be challenging [Zecha et al. 2011; Benic et al. 2015; Mir-Mari et al. 2016]. A decade ago, in the context of alveolar ridge preservation, a soft-type block in which DBBM particles are incorporated into a collagen matrix was developed [Nevins et al. 2003; Jung et al. 2004; Sculean et al. 2005]. This combination provides the material with enough flexibility and compression capability to improve both the clinical handling and the adaptation to the bone defect [Jung et al. 2013b].

This study was designed as the second part of a research project that aimed to assess the volume stability of different regeneration materials during wound closure. In the first part, even though the use of pins or of block bone substitutes proved to enhance graft stability, a 20% reduction in horizontal thickness was still detected at implant collar level [Mir-Mari et al. 2016]. To overcome the horizontal loss and increase GBR stability at implant collar level, a new regeneration technique using an L-shaped soft-block bone substitute was proposed. This technique was investigated in the present *in vitro* study.

The aim of this study was to test whether or not the addition of an L-shaped soft-block bone substitute to the particulate bone substitutes enhances volume stability during flap closure compared to particulate bone substitutes alone.

Material and methods

The present *in vitro* study was designed as part II of a previous publication [Mir-Mari

et al. 2016]. It also serves to validate that same study. Hence, the model has already been described in detail [Mir-Mari et al. 2016].

In vitro model

Twenty box-shaped bone defects were created in 10 five-month-old pig mandibles. Two defects per mandible were created symmetrically and bilaterally. The bone defects measured 8 mm mesio-distally, 3 mm buccorally and 6 mm apico-coronally (Fig. 1). One titanium implant (OsseoSpeed™ S, ASTRA TECH Implant System, DENTSPLY Implants, Mannheim, Germany), 8 mm long and 4 mm in diameter, was inserted into each bone defect (Fig. 1). A more detailed description of the *in vitro* model can be consulted in part I of this research project [Mir-Mari et al. 2016].

GBR and wound closure

A new regeneration technique was proposed to increase GBR stability at implant collar level. To assess the improvement, the new technique was compared with a particulate xenograft alone, covered by a collagen membrane and fixed with titanium pins. Hence, the following two GBR procedures were randomly assigned by casting a die (Fig. 2):

- Particulate bone substitute alone (control): particulate DBBM (Bio-Oss® granules 0.25–1 mm, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) + collagen membrane (Bio-Gide®, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) + two titanium pins (Frios® membrane tacks, DENTSPLY Implants, Mannheim, Germany) ($n = 20$).
- L-shaped soft-block bone substitute (test): particulate DBBM (Bio-Oss® granules 0.25–1 mm, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) + Soft-Block (90% DBBM granules stabilized with 10% porcine collagen) formed into an L-shape (Bio-Oss® collagen, 250 mg, 0.4–0.5 cc, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) + collagen membrane (Bio-Gide®, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) + two titanium pins (Frios®

membrane tacks, DENTSPLY Implants, Mannheim, Germany) ($n = 20$).

Each bone defect ($n = 20$) was augmented once with each of the two GBR procedures under study. The order of application was randomly assigned by casting a die. Eleven defects received the test group procedure as the first treatment. Accordingly, nine defects received the control group procedure first. Prior to the GBR procedures, the different bone substitute materials were soaked in a 50% aqueous solution of a radio-opaque contrast medium (Gastrografin®, Bayer, Zurich, Switzerland).

In the Control group (particulate bone substitutes alone), the procedure was applied following the same protocol as described previously [Mir-Mari et al. 2016]. The particulate bone substitute was applied to the buccal surface of the implant and alveolar ridge, aiming to achieve 1 mm of over-contour (Fig. 2a). Standardized over-augmentation was guaranteed using a silicone guide. A collagen membrane was then applied to cover the bone substitute and overlap the walls of the defect by at least 2 mm. Finally, the membrane was stabilized by means of two titanium pins placed 1 mm apically to the apical wall of the defect.

In the case of the Test group (L-shaped soft-block bone substitute), the particulate bone substitute was applied to the buccal surface of the implant and alveolar ridge in exactly the same way as for the control group. A rectangular soft block of DBBM was then cut extraorally into an L-shaped block with a N°15 surgical blade. A periodontal probe was used to ensure a homogeneous thickness of 3 mm in the occlusal portion of the L. The thickness of the buccal portion was 2 mm (Fig. 2b). The L-shaped soft block was applied on top of the particulate xenograft, aiming to achieve 3 mm of overcontour both vertically and horizontally (Fig. 2b, 2c and 2d). A collagen membrane was then applied to cover the bone substitute and overlap the walls of the defect by at least 2 mm. Finally, the membrane was stabilized by

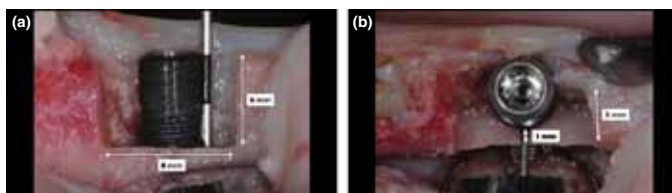


Fig. 1. (a) Buccal and (b) occlusal view of the experimental peri-implant bone defect.

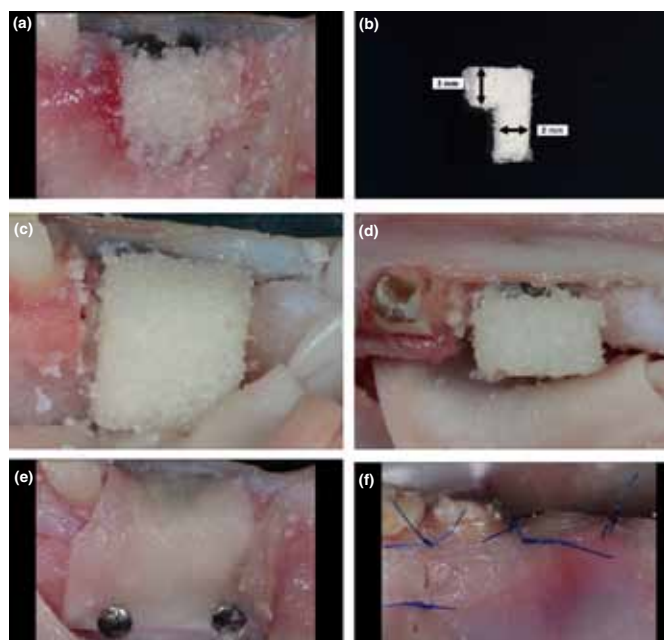


Fig. 2. (a) Particulate xenograft applied in the particulate treatment modality; (b) L-shaped soft-block xenograft used for the L-shaped treatment modality; (c) buccal and (d) occlusal view of the L-shaped treatment procedure; (e) collagen membrane stabilized by two titanium pins; (f) buccal view after suturing.

means of two titanium pins placed 1 mm apically to the apical wall of the defect (Fig. 2e).

A periosteal releasing incision was performed in the apical portion of the buccal mucoperiosteal flap. The flaps were sutured with a polyamide monofilament suture (Dafilon® 5-0, B. Braun Medical AG, Sempach, Switzerland). One operator performed a standard suturing procedure (one interrupted horizontal mattress and four simple interrupted sutures per site) (Fig. 2f).

Prior to applying the subsequent GBR procedure on the same site, the sutures, membranes, pins and bone substitute were removed and the experimental site was rinsed with a 0.9% saline solution.

Two clinicians performed the experimental surgical interventions. To eliminate operator bias, the first operator created the peri-implant defects and performed the GBR procedures and the second clinician effected the wound closures.

CBCT scanning

Cone-beam computed tomography (CBCT) (KaVo Dental GmbH, Biberach, Germany)

scans of the mandible were performed immediately before and after flap suturing at each site. For the scanning procedure, the jaws were placed on the supporting plate provided by the machine manufacturer, with the occlusal plane parallel to the horizontal plane, and positioned in the centre of field of view (FOV) using the laser orientation beams. The CBCT scans were obtained with the following technical parameters: 120 kV acceleration voltage, 5 mA beam current, FOV diameter 16 cm, FOV height 6 cm, 600 projections, 360° rotation, voxel size 0.25 mm and scan time 14.7 s (Benic et al. 2013).

CBCT image evaluation

OsiriX™ imaging software (OsiriX v.4.0 32-bit, Pixmeo SARL, Bernex, Switzerland) was used to evaluate the CBCT DICOM data sets. The “full dynamic” visualization mode was used to set the window level (3084) and width (8168). Cross-sectional images perpendicular to the implant's central axis and the panoramic curve of the mandible were used for the measurements. The horizontal thickness of the augmented region (bone substitute + membrane) was assessed in a direction

perpendicular to the implant surface at the implant shoulder ($HT_{0\text{ mm}}$) and at 1 mm, 2 mm, 3 mm, 4 mm and 5 mm apical to the implant shoulder ($HT_{1\text{ mm}} - HT_{5\text{ mm}}$) (Fig. 3). To facilitate the reproducibility of the measurements, a transparent acetate foil with printed implant outlines and HT assessment levels was placed on the computer monitor over the CBCT images (Benic et al. 2013).

To describe the flexibility and compression capability of the test group, two additional measurements were made: vertical thickness (VT) and 45° thickness (45-T). VT was assessed from the implant shoulder to the most coronal point of the GBR material, following the long axis of the implant. In the case of 45-T, the thickness from the implant shoulder to the most buccal and coronal aspect of the GBR was measured in a + 45° direction from the long axis of the implant (Fig. 3b and 3c).

The presence of void spaces within the augmented area was assessed in order to describe the fit of the bone substitute to the bone defect. Void spaces were defined as radiolucent regions within the augmented area with a diameter of ≥ 0.5 mm. One calibrated investigator performed all the CBCT measurements.

Data analysis

The change in HT during flap suturing was the primary outcome of the study. It was calculated as absolute (mm) and relative value (%) (SPSS version 20, IBM, Armonk, USA). The unit of study was peri-implant bone defect. Sample size calculation was performed for repeated-measures ANOVA within factors effect, with a 0.5 effect size, $\alpha = 0.05$ and Power = 0.95 using G*Power (Faul et al. 2007, 2009). Thus, a sample size of 16 defects was required. Finally, 20 defects were created and treated with each of the 2 different regeneration approaches.

Descriptive statistics were computed for all the parameters. For continuous parameters, the data distributions were represented by bar plots and boxplots. The data were reported using means, standard deviations (SD) and 95% confidence intervals (95% CI). The assumption of normality was checked and confirmed by the Kolmogorov–Smirnov with the Lilliefors correction and Shapiro–Wilk tests. All the results, with exception of 45-T in the test group, presented a normal distribution. For discrete variables, the absolute and relative frequencies were calculated.

To evaluate the reliability of the *in vitro* investigation model, the before suture, after suture and change in horizontal thickness (HT) values of the “granulate + pins” group in the part I paper (Mir-Mari et al. 2016) were

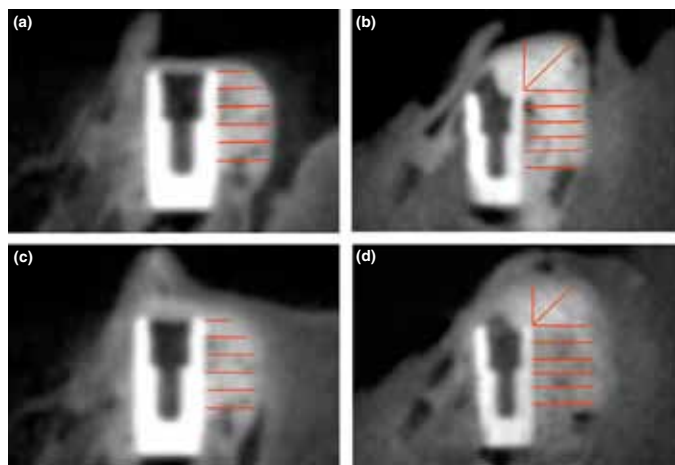


Fig. 3. Bucco-oral CBCT reconstructions with the measurements of the augmented regions (dimensions: HT0 mm-HT5 mm, VT and 45-T): (a) particulate and (b) L-shaped treatments before suturing; (c) particulate and (d) L-shaped treatments after suturing.

extracted and compared with the current control group, which received the same treatment.

Repeated-measures ANOVAs were applied to detect differences in HT before suturing and differences in HT changes between the treatment procedures. The Greenhouse-Geisser correction was performed when Mauchly's test ruled out sphericity. The results of tests with P -values of ≤ 0.05 were considered statistically significant. For post hoc contrasts in two- and three-factor ANOVA, the Bonferroni correction was used. In case of non-normal data distribution, non-parametric paired Wilcoxon test with Bonferroni's correction of the significance level was applied to test differences between the treatment procedures. Results of tests with P -values $\leq 0.05/3 = 0.016$ were considered statistically significant.

Two weeks after the CBCT image analysis, 10 randomly selected CBCT images were re-assessed to test the intra-observer reliability of CBCT measurements. The intra-class correlation coefficient (ICC) for HT0 mm - HT5 mm ranged from 0.970 to 0.985 (95% CI: 0.927 - 0.994), indicating excellent intra-examiner agreement.

Results

Stability analysis

The results of two- and three-factor ANOVA for repeated measures are presented in Tables 1a and 1b. Statistically significant differences between the test and control groups

were detected before suturing ($P < 0.001$) (Table 1a). When considering the six apico-coronal levels (HT0-5 mm) as a whole, neither wound closure ($P = 0.891$) nor the different GBR procedures ($P = 0.328$) induced any statistically significant change in HT (Table 1b).

The results for HT before and after suture and changes in HT at the 6 different apico-coronal levels (HT0-5 mm) for the two GBR procedures are presented in Tables 2 and 3 and Figs. 4 and 5.

The change in HT0 mm was $-20.5 \pm 23.3\%$ (SD) for the control group ($P < 0.001$) and -

$2.4 \pm 9.2\%$ (SD) for the test group ($P = 0.197$). The changes in HT1-5 mm ranged from $-7.4 \pm 17.1\%$ (SD) to $+8.4 \pm 20.8\%$ (SD) in the control group and from $-1.2 \pm 8.6\%$ (SD) to $+12.0 \pm 15.3\%$ (SD) in the test group.

For the control procedure, the reductions in HT0 mm and HT1 mm ($P < 0.001$ and $P = 0.03$, respectively) were statistically significant. No significant changes in HT0 mm ($P = 0.197$) or HT1 mm ($P = 0.647$) were observed for the test procedure.

The differences in changes in HT0 mm between the control and test groups were statistically significant ($P = 0.014$). There were no significant differences between the two treatment approaches for HT1-5 mm (HT1 mm, $P = 0.106$; HT2 mm, $P = 0.748$; HT3 mm, $P = 0.257$; HT4 mm, $P = 0.789$; HT5 mm, $P = 0.100$) (Table 3).

Reductions of $28.0 \pm 11.9\%$ (SD) in VT and $24.8 \pm 10.2\%$ (SD) in 45°-T were observed in the test group. Both differences were statistically significant ($P < 0.001$) (Table 4; Fig. 6).

In both treatment modalities, no void spaces (0/20 = 0%) were detected within the augmented regions after wound closure.

In vitro pig mandible study model reliability

No statistically significant differences were detected between the "granulate + pins" group from the previous study (Mir-Mari et al. 2016) and the control group in this study, which used identical materials (particulate xenograft + collagen membrane + pins) ($P = 0.942$), either when comparing the treatments at the six different heights (HT0-5 mm)

Table 1. (a) Results of two-factor repeated-measures ANOVA for horizontal thickness of the augmented region before suturing (baseline) and (b) results of two- and three-factor repeated-measures ANOVA for horizontal thickness of the augmented region after suturing

Factor(s)	Mauchly's sphericity	F	df	P-value*
(a)				
(1) Treatment modality§	1.00	148.372	1	<0.001†
(2) Apico-coronal level‡	<0.001	20.724	1.559	<0.001†
(1) × (2)	0.009	12.755	2.400	<0.001†
(b)				
(1) Treatment modality§	1.000	245.144	1	<0.001†
(2) Apico-coronal level‡	<0.001	43.073	1.379	<0.001†
(3) Suturing	1.000	0.019	1.000	0.891
(1) × (2)	0.003	27.396	1.621	<0.001†
(1) × (3)	1.000	1.009	1.000	0.328
(2) × (3)	0.001	13.781	1.547	<0.001†
(1) × (2) × (3)	0.015	5.458	2.065	0.08

(a): (1), Treatment modality; (2), Apico-coronal level; (3) × , interaction between the factors; F, F-test; df, degrees of freedom.

(b): (1), Treatment modality; (2), Apico-coronal level; (3), Suturing; × , interactions between the factors; F, F-test; df, degrees of freedom.

*Results of repeated-measures ANOVA with Greenhouse-Geisser correction.

†Statistically significant.

‡0-5 mm apical to the implant shoulder.

§GBR procedures.

Table 2. Horizontal thickness of the augmented region (HT) and changes in HT at different apico-coronal levels for procedures (a) control (particulate + collagen membrane + pins) and (b) test (particulate + L-shaped + collagen membrane + pins)

Treatment modality	Parameter	Before suturing (mm)	After suturing (mm)	Change (mm)	Change (%)	P-value*
		Mean ± SD [95% CI]				
(a) Control (particulate) (n = 20)						
	HT ₀ mm	2.3 ± 0.6 [2.0; 2.6]	1.7 ± 0.5 [1.5; 2.0]	-0.6 ± 0.5 [-0.8; -0.3]	-20.5 ± 23.2 [-31.4; -9.7]	< 0.001†
	HT ₁ mm	2.8 ± 0.6 [2.5; 3.0]	2.5 ± 0.5 [2.3; 2.7]	-0.3 ± 0.5 [-0.5; -0.0]	-7.4 ± 17.1 [-15.4; 0.6]	0.03†
	HT ₂ mm	3.0 ± 0.6 [2.7; 3.2]	3.0 ± 0.5 [2.8; 3.2]	-0.0 ± 0.5 [-0.3; 0.2]	1.0 ± 16.8 [-6.8; 8.9]	0.8
	HT ₃ mm	3.0 ± 0.6 [2.7; 3.3]	3.1 ± 0.5 [2.9; 3.4]	0.1 ± 0.5 [-0.1; 0.3]	5.3 ± 16.3 [-2.4; 12.9]	0.346
	HT ₄ mm	3.0 ± 0.5 [2.7; 3.2]	3.1 ± 0.7 [2.8; 3.4]	0.1 ± 0.6 [-0.1; 0.4]	5.2 ± 20.0 [-4.2; 14.6]	0.314
	HT ₅ mm	2.8 ± 0.5 [2.5; 3.1]	3.0 ± 0.7 [2.7; 3.4]	0.2 ± 0.6 [-0.1; 0.5]	8.4 ± 20.8 [-1.3; 18.2]	0.123
(b) Test (L-shaped) (n = 20)						
	HT ₀ mm	4.3 ± 0.7 [4.0; 4.7]	4.2 ± 0.8 [3.9; 4.6]	-0.1 ± 0.4 [-0.3; -0.1]	-2.4 ± 9.2 [-6.7; 1.9]	0.197
	HT ₁ mm	4.6 ± 0.7 [4.2; 4.9]	4.5 ± 0.8 [4.1; 4.9]	-0.0 ± 0.4 [-0.2; 0.1]	-0.8 ± 7.9 [-4.5; 2.8]	0.647
	HT ₂ mm	4.7 ± 0.8 [4.3; 5.1]	4.7 ± 0.8 [4.3; 5.1]	-0.1 ± 0.4 [-0.3; 0.1]	-1.2 ± 8.6 [-5.3; 2.8]	0.462
	HT ₃ mm	4.8 ± 0.8 [4.4; 5.2]	4.8 ± 0.8 [4.4; 5.1]	-0.0 ± 0.4 [-0.2; 0.1]	-0.8 ± 7.8 [-4.4; 2.9]	0.607
	HT ₄ mm	4.6 ± 0.8 [4.3; 5.0]	4.7 ± 0.7 [4.4; 5.1]	0.1 ± 0.4 [-0.1; 0.3]	2.7 ± 9.6 [-1.8; 7.2]	0.311
	HT ₅ mm	4.2 ± 0.8 [3.8; 4.5]	4.6 ± 0.7 [4.3; 4.9]	0.4 ± 0.6 [0.1; 0.7]	12.0 ± 15.3 [4.8; 19.1]	0.005

n, number; HTxmm, horizontal thickness of the augmented region measured x mm apical to the implant shoulder; SD, standard deviation; 95% CI, 95% confidence interval.
 *Results of repeated measures ANOVA with Greenhouse-Geisser correction.
 †Statistically significant.

Table 3. Changes in horizontal thickness of the augmented region for the different treatment procedures and results of repeated-measures ANOVA

	Change (mm)		Change (%)		Statistical analysis*
	Particulate	L-shaped	Particulate	L-shaped	
	Mean ± SD [95% CI]				
HT ₀ mm	-0.6 ± 0.5 [-0.8; -0.3]	-0.1 ± 0.4 [-0.3; -0.1]	-20.5 ± 23.2 [-31.4; -9.7]	-2.4 ± 9.2 [-6.7; 1.9]	P vs L: P = 0.014†
HT ₁ mm	-0.3 ± 0.5 [-0.5; -0.0]	-0.0 ± 0.4 [-0.2; 0.1]	-7.4 ± 17.1 [-15.4; 0.6]	-0.8 ± 7.9 [-4.5; 2.8]	P vs L: P = 0.106
HT ₂ mm	-0.0 ± 0.5 [-0.3; 0.2]	-0.1 ± 0.4 [-0.3; 0.1]	1.0 ± 16.8 [-6.8; 8.9]	-1.2 ± 8.6 [-5.3; 2.8]	P vs L: P = 0.748
HT ₃ mm	0.1 ± 0.5 [-0.1; 0.3]	-0.0 ± 0.4 [-0.2; 0.1]	5.3 ± 16.3 [-2.4; 12.9]	-0.8 ± 7.8 [-4.4; 2.9]	P vs L: P = 0.257
HT ₄ mm	0.1 ± 0.6 [-0.1; 0.4]	0.1 ± 0.4 [-0.1; 0.3]	5.2 ± 20.0 [-4.2; 14.6]	2.7 ± 9.6 [-1.8; 7.2]	P vs L: P = 0.789
HT ₅ mm	0.2 ± 0.6 [-0.1; 0.5]	0.4 ± 0.6 [0.1; 0.7]	8.4 ± 20.8 [-1.3; 18.2]	12.0 ± 15.3 [4.8; 19.1]	P vs L: P = 0.100

HTxmm, horizontal thickness of the augmented region measured x mm apical to the implant shoulder; SD, standard deviation; 95% CI, 95% confidence interval.
 *P = Particulate bone substitute alone (control); "L" = L-shaped soft-block bone substitute (test).
 *Results of repeated-measures ANOVA with Greenhouse-Geisser correction.
 †Statistically significant.

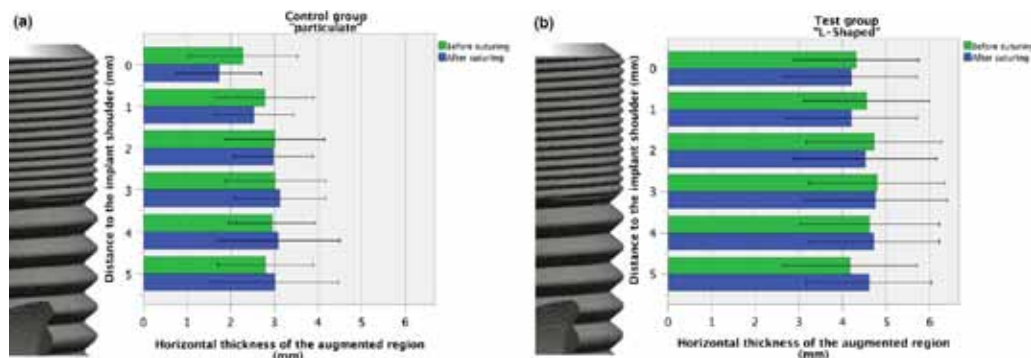


Fig. 4. Bar plots representing the horizontal thicknesses of the augmented regions at different apico-coronal levels (HT₀ mm–HT₅ mm) before and after suturing in (a) control group (particulate + collagen membrane + pins) and (b) test group (particulate + L-shaped soft-block + collagen membrane + pins). Error lines represent ± 2 standard deviations.

or when comparing them before and after wound closure ($P = 0.757$), Table 5.

Table 6 shows the absolute (mm) and relative (%) mean differences between the

“granulate + pins” group in the previous study and the control group in this study. No statistically significant differences were found at any of the six measurement

heights (HT₀₋₅ mm) ($P = 0.236 - 0.861$) (Table 6). These findings indicate that the model presents a high degree of reproducibility.

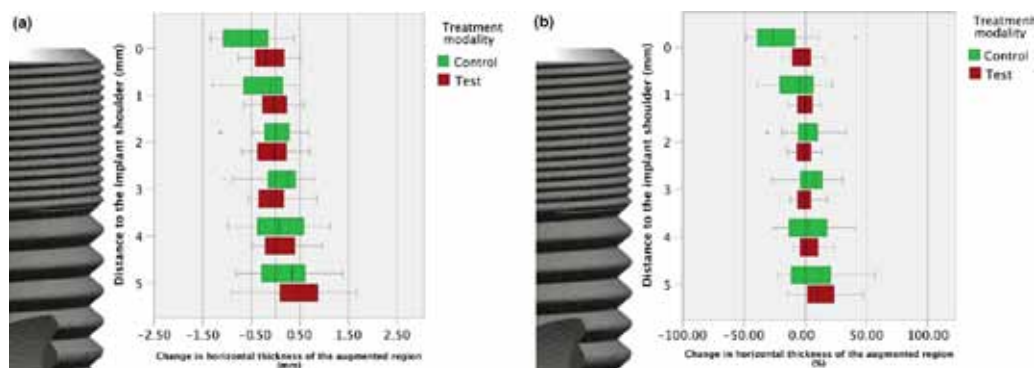


Fig. 5. Box plots representing the changes in horizontal thickness of the augmented regions during suturing for particulate (control) and L-shaped (test) treatment procedures (a) in mm and (b) in %.

Table 4. Mean values and changes in vertical thickness and 45° thickness of the augmented region in the test procedure (particulate + L-shaped + collagen membrane + pins) and results of statistical analysis

Treatment modality	Parameter	Before suturing (mm)	After suturing (mm)	Change (mm)	Change (%)	P-value
		Mean ± SD [95% CI]				
Test (L-Shaped)	Highest Point	3.6 ± 0.6 [3.3; 3.9]	2.6 ± 0.6 [2.3; 2.9]	-1.0 ± 0.5 [-1.2; -0.8]	-28.0 ± 11.9 [-33.6; -22.5]	<0.001† (*)
	45° thickness	4.2 ± 0.6 [3.9; 4.4]	3.1 ± 0.6 [2.9; 3.4]	-1.0 ± 0.5 [-1.2; -0.8]	-24.8 ± 10.2 [-29.6; -20.0]	<0.001† (♣)

n, number; HTxmm, horizontal thickness of the augmented region measured x mm apical to the implant shoulder; CM, Collagen membrane; SD, standard deviation; 95% CI, 95% confidence interval.
 *Results of repeated-measures ANOVA with Greenhouse-Geisser correction.
 ♣Results of non-parametric Wilcoxon test with Bonferroni correction
 †Statistically significant

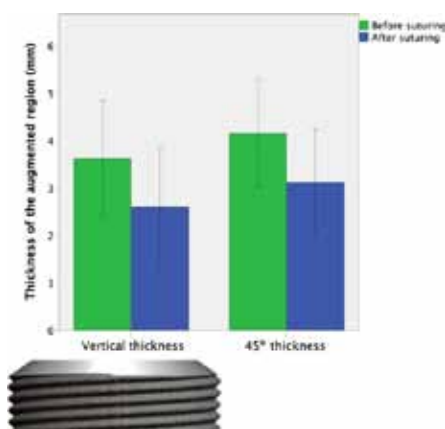


Fig. 6. Bar plots representing the vertical thicknesses and 45° thicknesses of the augmented regions in the test group (particulate + soft-block + collagen membrane + pins). Error lines represent ± 2 standard deviations.

Discussion

The present *in vitro* study demonstrated improved bone graft stability at the implant

collar level when a soft-block bone substitute was added to a particulate xenograft. Moreover, the L-shaped soft-block bone substitute showed significant compression capability

and adaptability to the bone defect without compromising horizontal regeneration stability.

The first part of the current research project detected between -20% and -40% horizontal thickness change at HT₀ mm and significant increases in graft stability in the middle and apical areas of the GBR (Mir-Mari et al. 2016). The use of fixation pins or a block bone substitute showed enhanced graft stability compared to the particulate xenograft alone. However, a 20% reduction was still found in the most coronal parts of the regeneration. In the present study, the change in HT between HT₀ mm and HT₅ mm in the control group (particulate bone substitute + collagen membrane + pins) ranged from a 20.5% reduction at HT₀ mm to an 8.4% increase at HT₅ mm. A recent animal study compared solid blocks of equine- and bovine-derived bone substitute materials with particulate bone grafts in combination with simultaneous implant placement for the regeneration of acute-type semi-saddle bone defects (Benic et al. 2015). The intraoperative horizontal thickness of the augmented

Table 5. Results of three-factor repeated-measures ANOVA for horizontal thickness of the augmented region in the "granulate + pins" (particulate + collagen membrane + pins) groups from the first and second studies

Factor(s)	Mauchly's sphericity	F	df	P-value*
(1) Treatment modality§	1.000	0.006	1	0.942
(2) Apico-coronal level‡	0.001	43.415	1.762	<0.001†
(3) Suturing	1.000	3.241	1	0.088
(1) × (2)	-0.001	0.855	1.271	0.390
(1) × (3)	1.000	0.099	1	0.757
(2) × (3)	0.008	26.336	1.805	<0.001†
(1) × (2) × (3)	0.006	0.941	2.034	0.400

(1), Treatment modality; (2), Apico-coronal level; (3) × , interaction between the factors; F, F-test; df, degrees of freedom.
 *Results of repeated-measures ANOVA with Greenhouse-Geisser correction.
 †Statistically significant.
 ‡0–5 mm apical to the implant shoulder.
 §GBR procedures.

regions measured 3 mm in all the groups. After wound closure and 4 months' healing for all the GBR procedures, less horizontal thickness of the augmented region was found at implant shoulder level (mean values: 0.6–1.7 mm) in comparison with the level 3 mm apical to the implant shoulder (mean values: 2.2–2.8 mm). In both studies, the solid blocks made of bovine xenograft performed better than the particulate xenograft as regards the horizontal stability of the augmented region, both during wound closure and during wound closure and also after 4 months of healing (Benic et al. 2015; Mir-Mari et al. 2016). However, both studies reported dislocations of the solid bovine-derived blocks. These observations are in agreement with the findings of previous studies (Schwarz et al. 2010 & Bae et al. 2014), which have reported handling and adaptation difficulties with solid type blocks.

To overcome any instability of the augmented region, the present study investigated the use of an L-shaped soft-block bone substitute. The change in HT_{0 mm} improved from -20.5% to -2.4% when the L-shaped soft block was applied. A higher mean displacement in the control group was observed at

HT_{0 mm} and HT_{1 mm}, with mean reductions of 0.6 ± 0.5 mm and 0.3 ± 0.5 mm, respectively. In contrast, the test group only showed 0.1 ± 0.4 mm and 0.0 ± 0.4 reductions at HT_{0 mm} and HT_{1 mm}, respectively.

A decade ago, a soft-block bone substitute in which deproteinized bovine bone mineral (DBBM) particles were incorporated into a 10% collagen matrix was introduced in the context of ridge preservation (Nevins et al. 2003; Jung et al. 2004; Sculean et al. 2005; Araújo & Lindhe 2009; Araújo et al. 2011). Due to its flexibility and adaptability, some authors have proposed its use for horizontal augmentation. A previous animal study (Schwarz et al. 2007) compared hydroxyapatite + beta tricalcium phosphate bone substitutes with soft blocks of DBBM for simultaneous GBR in combination with implant placement. Although good results were reported with the collagen-coated bone mineral after a healing period of 1–9 weeks, the authors still noted some membrane dislocation and bone graft displacement in an apical direction.

According to previous studies, apical displacement of bone substitute is a common finding during and/or after wound closure in GBR procedures (Schwarz et al. 2007, 2010;

Bae et al. 2014; Benic et al. 2015; Mir-Mari et al. 2016). The application of an L-shaped soft block of DBBM demonstrated increased coronal stability at the implant collar level (0.1 ± 0.4 mm reduction in HT_{0 mm}). While the horizontal thickness remained stable, all the pressure was applied to the occlusal part of the soft block. As a result, the vertical thickness fell by 28% and the 45° thickness by 24.8%. The combination of the granular DBBM with a collagen matrix showed high compression capability and adaptability to the defect anatomy without compromising horizontal augmentation and tension-free wound closure. Additionally, no void spaces were detected in any of the 20 samples (0/20; 0%), demonstrating the adaptability of the bone graft.

The role of fixation pins should also be emphasized. As demonstrated in a previous publication (Mir-Mari et al. 2016), fixation pins substantially enhance graft stability. These authors described frequent block dislocation or rotation (0–35%) when a hard-block bone substitute was used without pins. This is in agreement with a previous animal study where soft blocks of DBBM were used in combination with collagen membranes without fixation to regenerate dehiscence-type defects around dental implants (Schwarz et al. 2007). Membrane dislocation and apical graft displacements were frequently observed and, according to the authors, were attributed to poor adaptation of the bone graft at the implant surface.

Given the *in vitro* nature of the current investigation, no conclusions about bone regeneration can be drawn. However, a few comments should be made regarding expected bone formation properties with the L-shaped technique. As demonstrated histologically in previous studies, xenograft bone blocks are associated with less new bone formation (Araújo et al. 2002; Schwarz et al. 2008, 2010; De Santis et al. 2012). Large dehiscence defects (Schwarz et al. 2010;

Table 6. Horizontal thickness of the augmented region (HT) and changes in HT at different apico-coronal levels for (a) particulate + collagen membrane + pins treatment (1st study) and (b) particulate + collagen membrane + pins treatment (2nd study)

	Change (mm)		Change (%)		Statistical analysis*
	1st study	2nd study	1st study	2nd study	
	Mean ± SD [95% CI]				
HT _{0 mm}	-0.5 ± 0.5 [-0.7; -0.3]	-0.6 ± 0.5 [-0.8; -0.3]	-22.9 ± 21.2 [-32.8; -13.0]	-20.5 ± 23.2 [-31.4; -9.7]	1 vs 2: P = 0.702
HT _{1 mm}	-0.2 ± 0.4 [-0.4; -0.1]	-0.3 ± 0.5 [-0.5; -0.0]	-6.9 ± 12.5 [-12.8; -1.0]	-7.4 ± 17.1 [-15.4; 0.6]	1 vs 2: P = 0.767
HT _{2 mm}	-0.1 ± 0.3 [-0.2; 0.1]	-0.0 ± 0.5 [-0.1; 0.3]	-0.9 ± 10.5 [-5.8; 4.0]	1.0 ± 16.8 [-6.8; 8.9]	1 vs 2: P = 0.861
HT _{3 mm}	0.1 ± 0.3 [-0.1; 0.2]	0.1 ± 0.5 [-0.1; 0.3]	3.3 ± 11.0 [-1.8; 8.5]	5.3 ± 16.3 [-2.4; 12.9]	1 vs 2: P = 0.830
HT _{4 mm}	0.0 ± 0.4 [-0.1; 0.2]	0.1 ± 0.6 [-0.1; 0.4]	2.2 ± 12.0 [-3.5; 7.8]	5.2 ± 20.0 [-4.2; 14.6]	1 vs 2: P = 0.573
HT _{5 mm}	0.0 ± 0.3 [-0.1; 0.2]	0.2 ± 0.6 [-0.1; 0.5]	1.6 ± 12.1 [-4.1; 7.3]	8.4 ± 20.8 [-1.3; 18.2]	1 vs 2: P = 0.236

HT_{x mm}, horizontal thickness of the augmented region measured x mm apical to the implant shoulder; SD, standard deviation; 95% CI, 95% confidence interval; "1" = 1st study; "2" = 2nd study.

*Results of repeated-measures ANOVA with Greenhouse-Geisser correction.

†Statistically significant.

Benic et al. 2015) and low compression of the graft (increased space between particles) (Romanos et al. 2015) may be some of the reasons, which could explain why graft particles become embedded in a fibrous tissue instead of forming new bone. Consequently, the combination of a granular bone substitute plus an additional layer of soft-block bone substitute aims to achieve a stable coagulum with high potential for bone regeneration around the implant surface while retaining as much volume as possible in the buccal and occlusal areas. In fact, connective tissue integration of the particles is expected to happen in the most external aspect of the GBR. Future research should analyse further the quality of tissue formation and the long-term stability of the volume achieved when using a combination of particulate and soft-block bone substitutes.

Finally, no statistically significant differences were detected between the “granulate + pins” treatment in the first part of the investigation (Mir-Mari et al. 2016) and the repetition of the same treatment in the second part ($P > 0.05$). Therefore, the present study has proved the reliability and reproducibility of the pig mandible *in vitro* study model for analysing immediate GBR stability. Consequently, this *in vitro* model could be used to check for other GBR characteristics associated with material stability.

The *in vitro* set-up allowed for a standardization of the procedures under investigation (flap design and tension, defect size, amount of bone substitute). On the other hand, only

partial simulation of the clinical scenario of the GBR peri-implant defects could be achieved. In fact, blood clot formation might enhance stability of the bone substitute. However, even though coagulation plays a role in the early healing, it cannot prevent the displacement of the bone substitute during wound closure.

Technical differences between the two treatment approaches tested may be considered a possible limitation of the present study. In the particulate bone substitute group, GBR was only applied buccally, while in the L-shaped group, the material was applied to both the buccal and occlusal regions. It is important to stress that the main objective of this study was to compare two different GBR approaches applied in the way they would be used in a real clinical scenario. A technical modification to make the comparisons more homogeneous would not be appropriate for this purpose. In addition, it is important to bear in mind that only the intra-group differences within the test and control group were used for inter-group comparisons between them. Every site was treated once with each one of the two GBR procedures under investigation. This allowed eliminating the confounding effects related to flap characteristics and defect morphology. Blinding at the time of suturing was not possible. Finally, it should also be noted that as this series of two papers is the first in the literature to address immediate bone regeneration stability, there is a lack of comparable information on methodology, results and conclusions.

Conclusions

Within the limitations of the present *in vitro* study, it can be concluded that for GBR of peri-implant bone defects:

- The use of an L-shaped soft-block bone substitute added to a particulate xenograft in combination with a collagen membrane and fixation pins enhanced the horizontal volume stability of the augmented region during flap closure.
- The present *in vitro* investigation model appears to be reliable for assessing the primary stability of biomaterials used for GBR.

Acknowledgements: The researchers gratefully acknowledge the assistance of Malgorzata Roos, PhD (Department of Biostatistics, University of Zurich, Zurich, Switzerland) and Dr Caroline Lustenberger (Clinic of Fixed and Removable Prosthodontics and Dental Material Science, Center of Dental Medicine, University of Zurich, Switzerland) for assistance in analysing the data. This study received support from the Clinic of Fixed and Removable Prosthodontics and Dental Material Science, Center of Dental Medicine, University of Zurich, Switzerland. The implants were kindly provided by DENTSPLY Implants, Mannheim, Germany. Mary Georgina Hardinge provided English language editing assistance.

References

- 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.G. & Lindhe, J. (2009) Ridge preservation with the use of Bio-Oss collagen: a 6-month study in the dog. *Clinical Oral Implants Research* **20**: 433–440.
- Araújo, M.G., Sonohara, M., Hayacibara, R., Cardaropoli, G. & Lindhe, J. (2002) Lateral ridge augmentation by the use of grafts comprised of autologous bone or a biomaterial. An experiment in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **29**: 1122–1131.
- von Arx, T., Cochran, D.L., Hermann, J.S., Schenk, R.K. & Buser, D. (2001) Lateral ridge augmentation using different bone fillers and barrier membrane application. A histologic and histomorphometric pilot study in the canine mandible. *Clinical oral implants research* **12**: 260–269.
- Bae, S.Y., Park, J.C., Shin, H.S., Lee, Y.K., Choi, S.H. & Jung, U.W. (2014) Tomographic and histometric analysis of autogenous bone block and synthetic hydroxyapatite block grafts without rigid fixation on rabbit calvaria. *Journal of Periodontal & Implant Science* **44**: 251–258.
- Benic, G.I. & Hammerle, C.H. (2014) Horizontal bone augmentation by means of guided bone regeneration. *Periodontology* **66**: 13–40.
- Benic, G.I., Jung, R.E., Siegenthaler, D.W. & Hämmerle, C.H.F. (2009) Clinical and radiographic comparison of implants in regenerated or native bone: 5-year results. *Clinical Oral Implants Research* **20**: 507–513.
- Benic, G.I., Sancho-Puchades, M., Jung, R.E., Deyhle, H. & Hämmerle, C.H. (2013) *In vitro* assessment of artifacts induced by titanium dental implants in cone beam computed tomography. *Clinical Oral Implants Research* **24**: 378–383.
- Benic, G.I., Thoma, D.S., Muñoz, F., Sanz-Martin, I., Jung, R.E. & Hämmerle, C.H. (2015) Guided bone regeneration of peri-implant defects with particulate and block xenogenic bone substitutes. *Clinical Oral Implants Research*. [Epub ahead of print].
- Carpio, L., Loza, J., Lynch, S. & Genco, R. (2000) Guided bone regeneration around endosseous implants with anorganic bovine bone mineral. A randomized controlled trial comparing bioabsorbable versus non-resorbable barriers. *Journal of Periodontology* **71**: 1743–1749.
- Chiapasco, M. & Zaniboni, M. (2009) Clinical outcomes of GBR procedures to correct peri-implant dehiscences and fenestrations: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research* **20**(Suppl 4): 113–123.
- Dahlin, C., Lekholm, U., Becker, W., Becker, B., Higuchi, K., Callens, A., & van Steenberghe, D. (1995) Treatment of fenestration and dehiscence bone defects around oral implants using the guided tissue regeneration technique: a prospective multicenter study. *The International journal of oral & maxillofacial implants* **10**: 312–318.
- De Santis, E., Lang, N.P., Scala, A., Vignano, P., Salata, L.A. & Botticelli, D. (2012) Healing outcomes at implants installed in grafted sites: an experimental study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **23**: 340–350.
- Faul, F., Erdfelder, E., Buchner, A. & Lang, A.-G. (2009) Statistical power analyses using G*power 3.1: tests for correlation and regression analyses. *Behavior Research Methods* **41**: 1149–1160.

- Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A.-G. & Buchner, A. (2007) G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods* **39**: 175–191.
- Fugazzotto, P.A. (1997) Success and failure rates of osseointegrated implants in function in regenerated bone for 6 to 51 months: a preliminary report. *The International journal of oral & maxillofacial implants* **12**: 17–24.
- Jung, R.E., Benic, G.I., Scherrer, D. & Hämmerle, C.H. (2015) Cone beam computed tomography evaluation of regenerated buccal bone 5 years after simultaneous implant placement and guided bone regeneration procedures—a randomized, controlled clinical trial. *Clinical Oral Implants Research* **26**: 28–34.
- Jung, R.E., Fenner, N., Zitzmann, N.U. & Hämmerle, C.H. (2013a) Long-term outcome of implants placed with guided bone regeneration (GBR) using resorbable and non-resorbable membranes after 12 to 14 years. *Clinical Oral Implants Research* **24**: 1065–1073.
- Jung, U.W., Lee, J.S., Lee, G., Lee, I.K., Hwang, J.W., Kim, M.S., Choi, S.H. & Chai, J.K. (2013b) Role of collagen membrane in lateral onlay grafting with bovine hydroxyapatite incorporated with collagen matrix in dogs. *Journal of Periodontal and Implant Science* **43**: 64–71.
- Jung, R.E., Siegenthaler, D.W. & Hämmerle, C.H. (2004) Postextraction tissue management: a soft tissue punch technique. *The International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **24**: 545–553.
- Lorenzoni, M., Pertl, C., Keil, C. & Wegscheider, W.A. (1998) Treatment of peri-implant defects with guided bone regeneration: a comparative clinical study with various membranes and bone grafts. *The International journal of oral & maxillofacial implants* **13**: 639–646.
- Mir-Mari, J., Wui, H., Jung, R.E., Hämmerle, C.H. & Benic, G.I. (2016) Influence of blinded wound closure on the volume stability of different GBR materials: an *in vitro* cone-beam computed tomographic examination. *Clinical Oral Implants Research* **27**: 258–265.
- Nevins, M.L., Camelo, M., Lynch, S.E., Schenk, R.K. & Nevins, M. (2003) Evaluation of periodontal regeneration following grafting intrabony defects with bio-oss collagen: a human histologic report. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry* **23**: 9–17.
- Romanos, G.E., Delgado-Ruiz, R.A., Gómez-Morano, G., López-López, P.J., Mate Sánchez de Val, J.E. & Calvo-Guirado, J.L. (2015) Role of mechanical compression on bone regeneration around a particulate bone graft material: an experimental study in rabbit calvaria. *Clinical Oral Implants Research* **1–8**. doi: 10.1111/clr.12592. [Epub ahead of print].
- Schwarz, F., Ferrari, D., Balic, E., Buser, D., Becker, J. & Sager, M. (2010) Lateral ridge augmentation using equine- and bovine-derived cancellous bone blocks: a feasibility study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **21**: 904–912.
- Schwarz, F., Herten, M., Ferrari, D., Wieland, M., Schmitz, L., Engelhardt, E. & Becker, J. (2007) Guided bone regeneration at dehiscence-type defects using biphasic hydroxyapatite + beta tricalcium phosphate (Bone Ceramic) or a collagen-coated natural bone mineral (Bio-Oss Collagen): an immunohistochemical study in dogs. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* **36**: 1198–1206.
- Schwarz, F., Rothamel, D., Herten, M., Ferrari, D., Sager, M. & Becker, J. (2008) Lateral ridge augmentation using particulated or block bone substitutes bio-coated with rhGDF-5 and rhBMP-2: an immunohistochemical study in dogs. *Clinical Oral Implants Research* **19**: 642–652.
- Sculean, A., Chiantella, G.C., Windisch, P., Arweiler, N.B., Brex, M. & Gera, I. (2005) Healing of intra-bony defects following treatment with a composite bovine-derived xenograft (Bio-Oss Collagen) in combination with a collagen membrane (Bio-Gide PERIO). *Journal of Clinical Periodontology* **32**: 720–724.
- Zecha, P.J., Schortinghuis, J., van der Wal, J.E., Nagursky, H., van den Broek, K.C., Sauerbier, S., Vissink, A. & Raghoobar, G.M. (2011) Applicability of equine hydroxyapatite collagen (eHAC) bone blocks for lateral augmentation of the alveolar crest. A histological and histomorphometric analysis in rats. *International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery* **40**: 533–542.
- Zitzmann, N.U., Naef, R. & Schärer, P. (1997) Resorbable versus nonresorbable membranes in combination with Bio-Oss for guided bone regeneration. *The International journal of oral & maxillofacial implants* **12**: 844–852.
- Zitzmann, N.U., Schärer, P. & Marinello, C.P. (1999) Factors influencing the success of GBR. Smoking, timing of implant placement, implant location, bone quality and provisional restoration. *Journal of Clinical Periodontology* **26**: 673–682.
- Zumstein, T., Billstrom, C. & Sennerby, L. (2012) A 4- to 5-Year Retrospective clinical and radiographic study of ncess implants placed with or without GBR Procedures. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* **14**: 480–490.

Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article:

Table S1. (extended version of table 2 including mean, 95% CI, median, minimum and maximum values) Horizontal thickness of the augmented region (HT) and changes in HT at different apico-coronal levels for procedures (a) control (particulate + collagen membrane + pins) and (b) test (particulate + L-shape + collagen membrane + pins).

Table S2. (extended version of table 3 including mean, 95% CI, median, minimum and maximum values). Changes in horizontal thickness of the augmented region for the different treatment procedures and results of repeated-measures ANOVA.

Table S3. (extended version of table 4 including mean, 95% CI, median, minimum and maximum values). Mean values and changes in vertical thickness and 45° thickness of the augmented region in the test procedure (particulate + L-shape + collagen membrane + pins) and results of statistical analysis.

Table S4. (extended version of table 6 including mean, 95% CI, median, minimum and maximum values). Horizontal thickness of the augmented region (HT) and changes in HT at different apico-coronal levels for (a) particulate + collagen membrane + pins treatment (1st study) and (b) particulate + collagen membrane + pins treatment (2nd study).

