

Estudio histológico e histomorfométrico del β -fosfato tricálcico postextracción como biomaterial estabilizador de la cresta alveolar

Ripollés De Ramón J*, Muñoz Corcuera M*, Colmenero Ruiz C*, Serrano Sánchez V**, Vaello Checa I**

RESUMEN

La reabsorción alveolar después de una extracción dental resulta un reto para la implantología contemporánea. La colocación de implantes dentales postextracción junto con técnicas de preservación alveolar son dos métodos usados para prevenir la pérdida significativa de volumen óseo que se produce postextracción.

En este artículo exponemos el manejo del hueso alveolar residual postextracción mediante el empleo de una técnica de preservación alveolar colocando β -fosfato tricálcico.

La evaluación clínica del caso intervenido denota una sólida formación de hueso nuevo pasado los 6 meses después de su aplicación. En el momento de la colocación del implante se realizó una biopsia con su consiguiente estudio histomorfométrico donde se encontró un 53,4 % de hueso mineralizado, 19,30 % hueso nuevo y 13,2 % de hueso residual de β -fosfato tricálcico. El hueso generado fue apto para la colocación de implantes dentales y su carga protésica.

PALABRAS CLAVE: regeneración ósea, histología, histomorfometría, material de injertos, β -fosfato tricálcico.

ABSTRACT

Alveolar atrophy following tooth extraction remains a challenge for future dental implant placement. Immediate implant placement and postextraction alveolar preservation are 2 methods that are used to prevent significant postextraction bone loss. In this article, we report the management of a maxillary tooth extraction socket using an alveolar preservation technique involving placement of β -tricalcium phosphate (β -TCP).

Clinical examination revealed solid new bone formation 6 months after the procedure. At the time of implant placement, histomorphometric analysis of the biopsied bone showed that it contained 53.4 % mineralized bone, 19.30 % bone marrow and 13.2 % residual β -TCP. The healed bone was able to support subsequent dental implant placement and loading.

KEYWORDS: bone regeneration, histology, histomorphometry, graft materials, β -tricalcium phosphate.

INTRODUCCIÓN

La reabsorción alveolar postextracción es un fenómeno fisiológico que se produce de forma habitual después de la extracción dental o pérdida dental, por el cual, el proceso alveolar residual comienza a disminuir su volumen óseo, tanto en altura como en anchura respecto a su comparación inicial.

El proceso fisiológico que tiene lugar se caracteriza por los siguientes episodios:

1. El lecho alveolar es colapsado por un coágulo sanguíneo en el plazo de las primeras 24 horas, seguido de un proceso hemolítico inflamatorio.
2. A las 48-72 horas, comienza a producirse el reemplazo del coágulo inicialmente formado por un tejido de granulación colagénico y con un alto poder de angiogénesis.

3. En el cuarto-quinto día, se aprecia una proliferación epitelial con incremento notable de células fibroblásticas comenzando a observarse los primeros osteoclastos.

4. A la semana, observamos un componente vascular, tejido conectivo joven, tejido osteoide apical y cubierta epitelial sobre la herida. El tejido conectivo joven se transforma en maduro con mayor densidad y un trabeculado óseo neoformado que alcanza su madurez a la cuarta semana.

5. A los dos meses, observamos un relleno de tejido óseo inmaduro completo.

6. A los 100 días, se observa la mayor densidad radiográfica de este¹⁻³.

La reabsorción alveolar tras la pérdida de los dientes es mayor a lo largo del primer año dándose el pico máximo de reabsorción durante los tres primeros meses. Asimismo, cabe destacar una tasa de reabsorción cuatro veces mayor en hueso mandibular que en el maxilar⁴⁻⁷.

Según Darby et al.¹, tras una extracción dental suceden una serie de procesos de neoformación ósea intraalveolar con depreciación de tejido óseo en altura y anchura, y este puede variar en función del tamaño del defecto, higiene alcanzada en la zona, ausencia de procesos infecciosos y alteraciones metabólicas, entre otras, por lo que surge la necesidad de

*Doctor en Odontología. Titular SNS. Colaborador del Departamento de Estomatología III. Facultad de Odontología UCM. Profesor colaborador Máster de Cirugía Bucal e Implantes UC.

**Estudiante de 5º curso de Odontología UCM. Colaborador Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina UCM.

Correspondencia: Dr. Jorge Ripollés de Ramón. C/ Platerías 1. 28016 Madrid.

Correo electrónico: jorgeripolles@hotmail.com

TABLA 1		
CLASIFICACIÓN DE LOS DEFECTOS DE LA CRESTA ALVEOLAR SEGÚN SEIBERT		
TIPO	ANCHURA	ALTURA
Clase I	Disminuida	Mantenida
Clase II	Mantenida	Disminuida
Clase III	Disminuida	Disminuida

TABLA 1. Clasificación de los defectos de la cresta alveolar según Seibert.

clasificar dichos defectos de acuerdo a su anchura y altura. Según Seibert⁶ clasificamos los defectos de la cresta alveolar según la *Tabla 1*.

MATERIAL Y MÉTODO

El estudio llevado a cabo se define como clínico, histológico, longitudinal y prospectivo. Fue aprobado por el comité ético del Hospital Clínico San Carlos de Madrid.

Como material de regeneración se utilizó el β -fosfato tricálcico "Keraos" de la casa Keramat (La Coruña), particulado con granulometría $>50\mu$ y 0,25-1 mm de tamaño.

Como criterio de selección del paciente de nuestro estudio se destacan los siguientes criterios: mayor de 18 años, mantenimiento de salud general, al menos una pieza dental susceptible de ser extraída y que esta fuese sustituida por un implante dental, firma del consentimiento informado y compromiso en acudir a las visitas necesarias. Se excluyó cualquier paciente que padeciese endocrinometabolopatías, fumase más de 10 cigarrillos/día, estuviese en tratamiento con bifosfonatos o hubiese tomado antibióticos al menos un mes antes de la intervención. Asimismo, el alveolo postextracción no debía de tener ningún tipo de defecto en su pared.

Las variables objeto de estudio se encuadran dentro de un concepto clínico, histológico e histomorfométrico. Los parámetros histomorfométricos primarios habituales según el acuerdo del comité de nomenclatura en histomorfometría ASBMR ("American Society for Bone and Mineral Research") los enumeramos en la *Tabla 2*.

Además de todos estos parámetros primarios, existen múltiples parámetros derivados de todos los anteriores; entre ellos



FIGURA 1. Situación basal.

destacamos el grado de formación ósea (BFR), definido como el volumen de hueso mineralizado formado por unidad de tiempo; este grado de formación ósea puede ser referido a la superficie trabecular total, al volumen trabecular total o al volumen de tejido total.

METODOLOGÍA CLÍNICA

El paciente objeto de nuestro estudio es un varón de 42 años de edad. Previo a la realización de la exodoncia se realizó una radiografía periapical y una ortopantomografía, que fueron repetidas en el momento previo a la toma de la biopsia y a la colocación del implante dental.

Se procedió a la realización de dos exodoncias de premolares superiores debido a causas periodontales en nuestro paciente objeto a estudio. Se procedió a la preparación del campo quirúrgico, se anestesió con articaína 1/100.000 adrenalina y se practicó una extracción lo más atraumática posible. Tras la extracción se cureté el interior de los alveolos y se comprobó la integridad de la pared alveolar; se procedió a la aplicación del biomaterial-fosfato tricálcico en el interior de los alveolos dentarios y se cerró por primera intención. A los diez días retiramos los puntos de sutura (F).

Transcurridos 6 meses desde la intervención volvimos a realizar una reentrada quirúrgica en la zona tratada con el biomaterial a fin de colocar un implante dental como tratamiento que sustituyese los dientes perdidos. Para la realización de la biopsia se utilizó una trefina de 2,2 mm de diámetro interior y 3 mm de diámetro exterior. Esta trefina se utilizó como fresa de iniciación para la colocación del implante dental.

TABLA 2			
PARÁMETROS HISTOMORFOMÉTRICOS PRIMARIOS ASBMR			
PARÁMETROS ESTÁTICOS		PARÁMETROS DINÁMICOS	
Volumen óseo (BV/TV)	Volumen de osteoide (OV/BV o OV/TV)	Grado de aposición mineral (MAR)	Superficie de mineralización (MS/BSo MS/S)
Superficie osteoide (OS/BS)	Grosor de osteoide		
Superficie osteoclástica	Superficie ósea		
Volumen de fibrosis			

TABLA 2. Parámetros histomorfométricos primarios habituales según el acuerdo del comité de nomenclatura en histomorfometría ASBMR.



FIGURA 2. Alveolos postextracción.



FIGURA 4. Alveolo cerrado mediante sutura, empleando un colgajo de reposición coronal.



FIGURA 3. Mezcla de β -fosfonato tricálcico y sangre del paciente.



FIGURA 5. Trefina empleada para la obtención de muestras.

La colocación del implante dental fue realizada a torque superior a 25 nm de inserción. La trefina utilizada se introdujo en un vial con una solución de formol tamponada al 10% y analizada anatomopatológicamente en el Instituto Cerámico Gallego adscrito a la Universidad de Santiago de Compostela (Figura 5).

MÉTODOLÓGIA ANATOMOPATOLÓGICA

La muestra recibida en el laboratorio fue procesada utilizando las técnicas de inclusión en metacrilato descritas por Donath⁴ en 1995 con el sistema EXACT a fin de conseguir láminas delgadas a partir de muestras de hueso sin descalcificar mediante la realización de los siguientes pasos:

- **Deshidratación.** El proceso de deshidratación de las muestras obtenidas se basó en su inmersión en un medio a base de agua y etanol en un vibrador continuo, incrementando de forma progresiva la riqueza de etanol.
- **Infiltración.** La infiltración plástica se realiza mediante una mezcla de glicometacrilato y peróxido de benzoilo al 1 % con etanol.
- **Inclusión y polimerización.** Para llevar a cabo la inclusión se introdujeron las muestras de tejido con las trefinas que las contenían en unos moldes de polietileno.
- **Tinción.** Concluido el proceso, se llevó a cabo la tinción

mediante la técnica de Levai Laczko. Previo a la tinción se realizó un lavado de la muestra en una cuba de ultrasonidos, con agua y jabón suave con la finalidad de eliminar tanto la suciedad provocada por el ambiente como la generada por el proceso de pulido. Esto evita que los colorantes produzcan artefactos en las muestras. Para evitar una contaminación durante el proceso de tinción, el mismo se llevó a cabo en una campana de flujo laminar que impide la presencia de contaminantes ambientales.

RESULTADOS

Aspectos clínico-radiológicos

No ocurrió ningún tipo de acontecimiento adverso o complicación quirúrgica inmediata, mediata o diferida. Se observó un proceso de cicatrización normal en cada uno de los procesos quirúrgicos. Cabe destacar la gran radiopacidad propia de los injertos sintéticos observada en la radiografía periapical y en la ortopantomografía realizada después del injerto del biomaterial.

Aspectos histológicos e histomorfométricos

Se pueden describir las variables histológicas de la siguiente manera:

- **Grado de neoformación ósea en el alveolo a los seis meses:** en general es moderado.
- **Cantidad y calidad de hueso neoformado a los seis meses:** la cantidad de hueso neoformado varía mucho, catalogándose desde moderada a muy abundante, según la biopsia. El hueso neoformado es inmaduro, como corresponde al tiempo transcurrido.

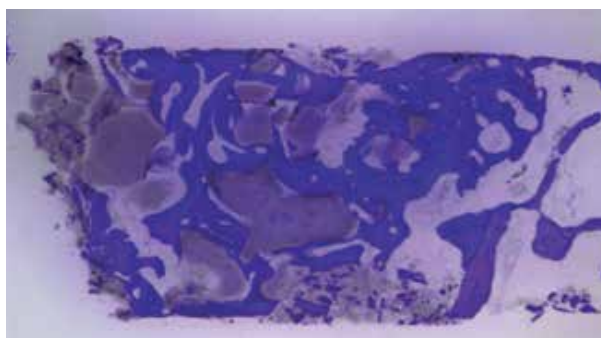


FIGURA 6. Corte sagital de una biopsia. Se observa abundante hueso neoformado alrededor del biomaterial, incluso englobando los fragmentos de éste. No se observa demasiada reabsorción, apenas algunos indicios en la zona central de la biopsia. La mayor parte del hueso que se observa es nuevo, con trazas de hueso viejo en la periferia. Tinción de Levai Laczko, 40X.

- Grado de contacto del hueso del paciente con el β -fosfato tricálcico remanente a los seis meses: el hueso neoformado engloba a los fragmentos del biomaterial, estando en contacto directo con él.

- Grado de reabsorción del β -fosfato tricálcico a los seis meses: el biomaterial comienza a reabsorberse, pero los signos de reabsorción son aún iniciales.

Desde un punto de vista histológico nos encontramos hueso trabecular nuevo, osteocitos intralacunares y principios estructurales en la formación de sistemas Haversianos; signos activos de remodelación ósea son observados junto con actividad osteoblástica. Las partículas del biomaterial se encontraban inmersas en el interior del hueso nuevo formado con signos iniciales de reabsorción. Los gránulos de β -fosfato denotaban un cierto grado de angioneogénesis periférica, donde se producen los fenómenos de formación y remodelación ósea. Asimismo, observamos células gigantes polinucleadas proinflamatorias en un escaso volumen.

El grado de hueso neoformado ascendió al 19,30 %, el área de hueso viejo fue del 13,20 %, el área de hueso lamelar fue del 53,4 %, La relación de hueso maduro versus el hueso maduro fue de 39,63 % (Figura 6).

DISCUSIÓN

El mantenimiento y preservación del volumen óseo alveolar próximo a su situación original preextracción es fundamental y necesario para obtener resultados estéticos favorables, predecibles y de éxito a largo plazo⁸, por lo que las técnicas de preservación alveolar han sido estudiadas por multitud de autores a lo largo de los años, siendo el hueso autógeno el estándar de oro en la mayoría de los procesos de regeneración ósea.

Sin embargo, la limitada disponibilidad de zonas donantes intraorales, la morbilidad causada en dichas áreas, mayor tiempo operatorio y los costes añadidos, sumados a la rápida e impredecible reabsorción que pueden sufrir, son desventajas que deben ser tenidas en cuenta a la hora de

planificar nuestro tratamiento. Por este motivo, surgen materiales biocompatibles que posibilitan una adecuada regeneración ósea permitiendo albergar células y promover la diferenciación celular en osteoblastos⁹ activos.

El β -fosfato tricálcico actúa como un material osteoconductor como demuestran multitud de estudios¹⁰⁻¹⁵ entre los que cabe destacar los de Zerbo en 2005¹¹, Ortega 2007¹⁹⁻²⁰, Martínez 2010¹² y Horowitz 2009¹³, entre otros. Su capacidad osteoconductor permite a las células osteoprogenitoras crecer en su superficie o en sus porosidades y diferenciarse a osteoblastos y por tanto formar tejido óseo. En múltiples estudios se ha comprobado que el β -fosfato es un biomaterial reabsorbible a lo largo del tiempo, tal y como podemos corroborar en nuestra investigación.

Zerbo¹¹, en 2005, realizó un estudio en el que se analizan varios parámetros entre los que destacan el mecanismo de reabsorción del β -fosfato tricálcico previo a sus sustitución por hueso, así como las células que intervienen en el proceso con potencial osteogénico.

La reabsorción que tiene lugar del β -fosfato tricálcico tiene lugar por dos vías: una reabsorción mediada por osteoclastos o por disolución en el fluido intersticial; para la detección de dicha actividad osteoclástica se utilizó un marcador citoplasmático osteoclástico: la fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP)¹²⁻¹⁴.

Las células osteogénicas que aparecen alrededor del biomaterial injertado, así como entre sus poros, fueron detectadas mediante anticuerpos Runx2 o factor de unión core alfa 1 (Cbfa-1). Runx2/Cbfa-1 es un factor de transcripción requerido para la activación de los osteoblastos y es crucial para la regulación de los genes responsables de la producción de proteínas específicas de la matriz extracelular ósea: colágeno tipo I, osteopontina (OPN) y sialoproteína ósea (BSP); de forma que sin Runx2/Cbfa-1 no se pueden las células osteogénicas diferenciar a osteoblastos y no se forma hueso¹³.

En los artículos revisados en la literatura se evidencia que el β -fosfato tricálcico tiene una actividad osteoconductor dado que se encontró Runx2/Cbfa-1 presente tanto en tejido óseo autógeno como en el material de aumento óseo^{15,16}.

Todas estas características del biomaterial son máximas cuando este es utilizado en una fase muy porosa (45-50 %) y con una granulometría y tamaño de poro superior a 60 μ m que claramente permita la infiltración celular¹⁵⁻²¹.

Autores como Martínez¹² y Boix¹⁸ preconizan que el poro de las partículas del biomaterial debería de ser de 300 μ m el primero, y entre 200-400 μ m el segundo. Estos mismos autores preconizan que el tamaño de la partícula debe ser pequeña dado que a menor tamaño se provoca menor reacción inflamatoria. Los resultados de nuestro estudio mostraron que todos los casos curaron sin complicaciones y con unos buenos resultados clínicos en términos de que todos los casos fueron susceptibles de la colocación de implantes dentales y estos tuvieron una estabilidad primaria aceptable (>25Ncm) y sin fracasos en la osteointegración hasta el momento.

Desde un punto de vista histológico, hemos podido observar la existencia de actividad neoformadora intensa en ambos grupos poblacionales. Podemos corroborar los estudios de Liu¹⁶ de 2007 en los que considera el β -fosfato tricálcico como un material prometedor en procesos de regeneración ósea, con un potente efecto osteoinductor^{17,18}. Asimismo, destacan los estudios de Boix¹⁸ en los que evalúa la eficacia de un biomaterial constituido en parte por β -fosfato tricálcico con respecto a no rellenar el alveolo, de forma similar al estudio realizado por nosotros, pero este con una muestra más pequeña y en perros; concluye que la ausencia de biomaterial, como ya constatábamos a través de múltiples autores¹⁹⁻²⁴ colapsa el proceso alveolar en comparación con aquellos que han sido rellenados, desde un punto de vista clínico por un lado, pero por otro, desde un punto de vista histológico, encuentra que existe una cantidad importante de hueso neoformado sin diferencias significativas entre maxilar o mandíbula, a diferencia del encontrado en los alveolos injertados donde encuentran una cantidad importante de tejido óseo neoformado²⁵⁻²⁷ pero con diferencias significativas entre mandíbula y maxilar con una diferencia aproximada del 20 % entre ambos. Estas conclusiones vuelven a manifestar el potencial osteoinductor del β -fosfato tricálcico así como nos abre una puerta de investigación clínica humana para poder comparar sus efectos a nivel maxilar con respecto a la mandíbula^{20,25}. Por otro lado, concluye que es de vital importancia que la granulometría del biomaterial sea alta para permitir la osteoinducción y el correcto comportamiento osteobiológico, en especial en este estudio en concreto el diámetro medido por difracción láser de los gránulos del biomaterial oscilaba entre las 200 y 500 μm ¹².

CONCLUSIONES

Desde un punto de vista clínico, el resultado obtenido es satisfactorio en base a la ausencia de complicaciones, la estabilidad quirúrgica de los implante colocados, así como de la radiopacidad obtenida. Se evidencia una cierta maduración del tejido óseo y un inicio de reabsorción del betafosfato. Podemos constatar ausencia de interfase entre el biomaterial y el hueso residual. En base a estos resultados satisfactorios con este biomaterial de granulometría y porosimetría específica se abren nuevas líneas de investigación para aumentar la muestra de estudio así como su comparación con otros biomateriales y la ausencia de este.

BIBLIOGRAFÍA

- Darby I, Chen S, De Poi R. Ridge preservation: what is it and when should it be considered. *Aust Dent J* 2008; 53(1): 11-21.
- Darby I, Chen ST, Buser D. Ridge preservation techniques for implant therapy. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009; 24 Suppl: 260-71.
- El Helou K, El Askary Ael S. Regenerative barriers in immediate implant placement: a literature review. *Implant Dent* 2008; 17(3): 360-71.
- Elian N, Cho SC, Froum S, Smith RB, Tarnow DP. A simplified socket classification and repair technique. *Pract Proced Aesthet Dent* 2007; 19: 99-104.
- Ellingsen JE, Thomsen P, Lyngstadaas P. Advances in dental implant materials and tissue regeneration. *Periodontology* 2000 2006; 41: 136-56.
- Seibert JS. Reconstruction of deformed, partially edentulous ridges, using full thickness onlay grafts. Part 1. Technique and wound healing. *Compend Contin Educ Dent*

- 1983; 4: 437-453.
- Donath K. Preparation of histologic sections. Norderstedt, *Exakt-Kulzer-Publication*, Germany, 1995 pp.1-16.
- Bozidar MB Brkovic, Hari S, Prasad BS. Simple preservation of a maxillary extraction socket using beta tricalcium phosphate with type I Collagen: preliminary clinical and histomorphometric observations. *JADA* 2008; 74-6: 523-28.
- Brkovic BM, Prasad HS, Rohrer MD, Konandreas G, Agrogiannis G, Antunovic D, Sándor GK. Beta-tricalcium phosphate/type I collagen cones with or without a barrier membrane in human extraction socket healing: clinical, histologic, histomorphometric, and immunohistochemical evaluation. *Clin Oral Invest* 2011; doi: 10.1007/s00784-011-0531-1.
- Zerbo IR, Zijdeveld SA, de Boer A, Bronckers AL, de Lange G, ten Bruggenkate CM, Burger EH. Histomorphometry of human sinus floor augmentation using a porous beta-tricalcium phosphate: a prospective study. *Clin Oral Implants Res* 2004; 15(6): 724-32.
- Zerbo IR, Bronckers AL, de Lange G, Burger EH. Localisation of osteogenic and osteoclastic cells in porous beta-tricalcium phosphate particles used for human maxillary sinus floor elevation. *Biomaterials* 2005; 26(12): 1445-51.
- Martínez A, Franco J, Saiz E, Guitián F. Maxillary sinus floor augmentation on humans: Packing simulations and 8 months histomorphometric comparative study of anorganic bone matrix and β -tricalcium phosphate particles as grafting materials. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2010 Jun 15; 30(5): 763-9.
- Horowitz RA, Mazor Z, Miller RJ, Krauser J, Prasad HS, Rohrer MD. Clinical evaluation alveolar ridge preservation with a beta-tricalcium phosphate socket graft. *Compend Contin Educ Dent* 2009; 30(9): 588-90, 592, 594 passim; quiz 604, 606.
- Combes C, Rey C. Adsorption of proteins and calcium phosphate materials bioactivity. *Biomaterials* 2002; 23(13): 2817-23.
- Liu G, Zhao L, Cui L, Liu W, Cao Y. Tissue-engineered bone formation using human bone marrow stromal cells and novel beta-tricalcium phosphate. *Biomed Mater* 2007; 2(2): 78-86.
- Markovid S, Veselinovid L, Lukid MJ, Karanovid L, Bračko I, Ignjatovid N, Uskokovid D. Synthetical bone-like and biological hydroxyapatites: a comparative study of crystal structure and morphology. *Biomed Mater* 2011; 6(4): 045005.
- Palti A, Hoch T. A concept for the treatment of various dental bone defects. *Implant Dent* 2002; 11(1): 73-8.
- Boix D, Weiss P, Gauthier O, Guicheux J, Boulter JM, Pilet P, Daculsi G, Grimandi G. Injectable bone substitute to preserve alveolar ridge resorption after tooth extraction 141 a study in dog. *J Mater Sci Mater Med* 2006; 17: 1145-52.
- Velasco Ortega E, Pato Mourelo J, Segura Egea JJ, Pérez Pérez O, Medel Soteras R. La utilización del betafosfato tricálcico como biomaterial en implantología oral. *Av Periodon Implantol* 2007; 19(3): 141-9.
- Velasco Ortega E, Pato Mourelo J, Llorio Castro JM, Cruz Valiño JM, Poyato Ferreira M. El tratamiento con implantes dentales post-extracción. *Av Periodon Implantol* 2007; 19 (Suppl): 35-42.
- Velasco Ortega E, Pato Mourelo J, García Méndez A, Medel Soteras R, López Frías J. Estudio clínico e histológico del beta-fosfato tricálcico en la elevación del seno maxilar. *Av Periodon Implantol* 2008; 20(3): 147-54.
- Becker W. Treatment of small defects adjacent to oral implants with various biomaterials. *Periodontology* 2000 2003; 33: 26-35.
- Becker W, Lynch SE, Lekholm U, Caffesse R, Donath K. A comparison of ePTFE membranes alone or in combination with palate derived growth factors and insulin like growth factor I or demineralized freeze dried bone in promoting bone formation around immediate extraction socket implants. *J Periodontol* 1992; 63: 929.
- Cho KS, Choi SH, Han KI, Chai JK, Wikesjo UM. Effects of pretreatment clinical parameters on bioactive glass implantation in intrabody periodontal defects. *Clin Oral Implants Res* 1998; 9: 419.
- Araújo MG, Liljenberg B, Lindhe J. beta-Tricalcium phosphate in the early phase of socket healing: an experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 2010; 21(4): 445-54.
- Araújo MG, Lindhe J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 212-218.
- Araújo MG, Lindhe J. Ridge alterations following tooth extraction with and without flap elevation: an experimental study in the dog. *Clin Oral Impl Res* 2009; 20: 545-549.