

lek. dent. Izabela Skierska

Wpływ wykorzystania usieciowanego kwasu hialuronowego na wyniki leczenia mnogich recesji dziąsłowych za pomocą zmodyfikowanej techniki tunelowej z przeszczepem podnabłonkowej tkanki łącznej.

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu

w dyscyplinie nauki medyczne

Promotor: dr hab. n. med. Bartłomiej Górski

Zakład Chorób Błony Śluzowej i Przyzębia,

Wydział Lekarsko-Stomatologiczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych

Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2024 r.

Słowa kluczowe: kwas hialuronowy, zmodyfikowana technika tunelowa, mnogie recesje dziąseł, przeszczep podnabłonkowej tkanki łącznej, histologia.

Keywords: hyaluronic acid, modified coronally advanced tunnel technique, multiple gingival recessions, subepithelial connective tissue graft, histology.

*Dziękuję mojemu Promotorowi,
Bartłomiejowi Górskiemu,
za poświęcony czas, ciągłą motywację
oraz nieocenioną pomoc w tym projekcie.*

*Dziękuję również moim Najbliższym,
a w szczególności Mężowi Wojtkowi,
Rodzicom i Siostrze Ani,
za nieustające wsparcie.*

Wykaz publikacji stanowiących rozprawę doktorską:

1. Górski B, **Skierska I**, Szerszeń M, Mańka-Malara K. Tunnel technique with cross-linked hyaluronic acid in addition to subepithelial connective tissue graft, compared with connective tissue graft alone, for the treatment of multiple gingival recessions: 6-month outcomes of a randomized clinical trial. *Clinical Oral Investigations*. 2023;27(5):2395-2406.
(praca oryginalna)

Lista MNiSW czasopism naukowych: 140 pkt
Impact Factor: 3.1

2. **Skierska I**, Górski B, Fus Ł. Tunnel technique and subepithelial connective tissue graft, with or without cross-linked hyaluronic acid, in the treatment of multiple gingival recessions: 12-month outcomes of a randomized clinical trial. *Journal of Periodontology*. 2024;1-13. DOI: 10.1002/JPER.24-00993 (*ahead-of-print*)
(praca oryginalna)

Lista MNiSW czasopism naukowych: 140 pkt
Impact Factor: 4.2

3. Górski B, **Skierska I**, Nijakowski K, Brodzikowska A. Tunnel Technique and Subepithelial Connective Tissue Graft, With or Without Cross-Linked Hyaluronic Acid, in the Treatment of Multiple Gingival Recessions: Prognostic Parameters for Clinical Treatment Outcomes of Randomized Controlled Trial. *Journal of Clinical Medicine*. 2024;13(22):6758.
(praca oryginalna)

Lista MNiSW czasopism naukowych: 140 pkt
Impact Factor: 3.0

4. **Mikołajczak I**, Górski B, Wyrębek B, Sawicki P. Leczenie mnogich recesji dziąsłowych z zastosowaniem zmodyfikowanej techniki tunelowej z przeszczepem podnabłonkowej tkanki łącznej i kwasu hialuronowego – opis przypadku. *Stomatologia Współczesna*, 2022;29(2):32-38.
(praca kazuistyczna)

Lista MNiSW czasopism naukowych: 20

Sumaryczna liczba punktów MNiSW: 440 pkt

Sumaryczny Impact Factor: 10.3

Spis treści

I. Wykaz zastosowanych skrótów	6
II. Streszczenie w języku polskim.....	7
III. Streszczenie w języku angielskim.....	9
IV. Wstęp uzasadniający połączenie publikacji w cykl	11
V. Założenia, cele i hipotezy badawcze	14
VI. Omówienie prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej.....	15
VII. Podsumowanie i wnioski	23
VIII. Kopie opublikowanych prac.....	24
IX. Bibliografia	70
X. Opinia Komisji Bioetycznej	74
XI. Oświadczenia współautorów publikacji.....	76

I. Wykaz zastosowanych skrótów

1. **CAF** – technika płata przesuniętego koronowo (ang. *coronally advanced flap*)
2. **CAL** – kliniczne położenie przyczepu (ang. *clinical attachment level*)
3. **CEJ** – połączenie szkliwno-cementowe (ang. *cemento-enamel junction*)
4. **CRC** – całkowite pokrycie korzenia (ang. *complete root coverage*)
5. **GC** – kolor dziąsła (ang. *gingival color*)
6. **GM** – brzeg dziąsła (ang. *gingival margin*)
7. **GR** – recesja dziąsła (ang. *gingival recession*)
8. **GRH** – wysokość recesji (ang. *gingival recession height*)
9. **GT** – grubość dziąsła (ang. *gingival thickness*)
10. **HA** – kwas hialuronowy (ang. *hyaluronic acid*)
11. **KTW** – szerokość tkanki zrogowaciałej (ang. *keratinized tissue width*)
12. **MCAT** – zmodyfikowana technika tunelowa (ang. *modified coronally advanced tunnel technique*)
13. **MGJ** – linia śluzówkowo- dziąsłowa (ang. *mucogingival junction*)
14. **MRC** – średnie pokrycie korzenia (ang. *mean root coverage*)
15. **MTC** – kontur dziąsła brzeżnego (ang. *marginal tissue contour*)
16. **NCCL** – ubytek niepróchnicowego pochodzenia (ang. *non-carious cervical lesion*)
17. **PPD** – głębokość sondowania (ang. *probing pocket depth*)
18. **RES** – wskaźnik poprawy estetyki pokrycia korzenia (ang. *Root Coverage Esthetic Score*)
19. **RT1/RT2** – typ recesji RT1/RT2 (ang. *recession type 1 and 2*)
20. **RW** – szerokość recesji (ang. *recession width*)
21. **SCTG** – przeszczep podnabłonkowej tkanki łącznej (ang. *subepithelial connective tissue graft*)
22. **STT** – powierzchnia tkanki miękkiej (ang. *soft tissue texture*)

II. Streszczenie w języku polskim

Wstęp

Recesje dziąseł (GR) są powszechnym problemem stomatologicznym, który dotyka pacjentów w różnym wieku i powoduje odsłonięcie powierzchni korzeni zębów. Nieleczone recesje mogą prowadzić do nadwrażliwości, ubytków niepróchnicowego pochodzenia, próchnicy korzeni oraz problemów estetycznych. Popularną techniką chirurgiczną stosowaną w leczeniu recesji dziąseł jest zmodyfikowana technika tunelowa (MCAT), często łączona z wykorzystaniem przeszczepu podnabłonkowej tkanki łącznej (SCTG). W ostatnich latach wzrosło zainteresowanie potencjalnym użyciem kwasu hialuronowego (HA) w periodontologicznej chirurgii plastycznej, ze względu na jego właściwości regeneracyjne, przyspieszające gojenie i angiogenezę, a także stymulację produkcji kolagenu.

Materialy i metody

Randomizowane badanie kliniczne objęło grupę 24 pacjentów z mnogimi, symetrycznymi recesjami dziąseł typu RT1 i RT2. Badanie zostało przeprowadzone jako *split-mouth*, w którym jedna strona łuku zębowego stanowiła stronę badaną, a druga była stroną kontrolną. Oceniono 266 recesji dziąseł, po 133 recesje w grupie badanej oraz kontrolnej. W grupie badanej wykonano zabieg MCAT+SCTG z aplikacją kwasu hialuronowego (HA), natomiast w grupie kontrolnej zabieg MCAT+SCTG bez użycia HA. W badaniu klinicznym po 6 i 12 miesiącach od leczenia chirurgicznego oceniono: wysokość recesji (GRH), szerokość recesji (RW), kliniczne położenie przyczepu (CAL), szerokość tkanki zrogowaciałej (KTW), grubość dziąsła (GT) oraz wskaźnik poprawy estetyki pokrycia korzenia (RES). Pierwszorzędowym punktem końcowym było średnie pokrycie korzenia (MRC). Ponadto przeprowadzono analizę histologiczną dziąsła po 12 miesiącach od przeprowadzonych zabiegów w celu oceny wpływu HA na budowę tkankową i komórkową obszaru biorczego. Wszystkie próbki zostały zabarwione hematoksyliną i eozyną, trichromem Massona, barwnikiem Verhoeff-van Giesona i błękitem alcjańskim do oceny pólnościowej.

Wyniki

W obu grupach zaobserwowano znaczącą poprawę wszystkich ocenianych parametrów klinicznych i estetycznych po 6 i po 12 miesiącach od leczenia chirurgicznego. Nie

zaobserwowano istotnej różnicy w MRC pomiędzy grupami (MRC w grupie badanej $84,32\% \pm 34,46$ i $85,71\% \pm 36,43$ w grupie kontrolnej, $p=0,9910$). Obie metody leczenia prowadziły do osiągnięcia wysokich wyników estetycznych (RES w grupie badanej $9,51 \pm 1,01$ i $9,26 \pm 1,10$ w grupie kontrolnej, $p=0,7292$). Zastosowanie HA poprawiało znacząco wygląd powierzchni tkanek miękkich (STT) ($p=0,0091$). Pozostałe parametry wchodzące w skład RES nie różniły się istotnie między grupami. Ocena histologiczna wykazała znacznie większą liczbę włókien elastynowych i umiarkowany wzrost gęstości włókien kolagenowych w próbkach biopsyjnych pobranych z miejsc badanych w porównaniu z miejscami kontrolnymi (odpowiednio $p=0,0419$ i $p=0,300$).

Wnioski

Przeprowadzone badanie wykazało, że połączenie techniki MCAT z SCTG jest bardzo skuteczną metodą w leczeniu mnogich recesji dziąseł. Aplikacja HA nie wpływała istotnie na całkowite pokrycie recesji, ale poprawiała wygląd powierzchni dziąsła. Ponadto użycie HA powodowało zwiększenie ilości włókien elastynowych i kolagenowych w obszarach bioregionach. Zastosowanie kwasu hialuronowego może być szczególnie korzystne w przypadkach, gdzie kluczową rolę odgrywa estetyka.

III. Streszczenie w języku angielskim

Impact of the application of cross-linked hyaluronic acid on the outcomes of treatment of multiple gingival recessions using a modified tunnel technique with subepithelial connective tissue graft.

Introduction

Gingival recessions (GR) are a common dental problem that affects patients of all ages and results in exposed tooth root surfaces. Untreated recessions can lead to sensitivity, non-carious cervical lesions, root caries and aesthetic problems. A popular surgical technique used to treat gingival recessions is the modified tunnel technique (MCAT), often combined with the use of subepithelial connective tissue grafting (SCTG). In recent years, there has been increased interest in the potential use of hyaluronic acid (HA) in periodontal plastic surgery, due to its regenerative properties, accelerating healing and angiogenesis, as well as stimulating collagen production.

Materials and methods

The randomized clinical trial included a group of 24 patients with multiple, symmetrical gingival recessions of types RT1 and RT2. The study was conducted as a split-mouth, with one side of the dental arch being the study side and the other side being the control side. A total of 266 gingival recessions were assessed, with 133 recessions each in the study and control groups. The MCAT+SCTG procedure with hyaluronic acid (HA) application was performed in the study group, while the MCAT+SCTG procedure without HA was performed in the control group. Clinical examination at 6 and 12 months after surgical treatment assessed gingival recession height (GRH), recession width (RW), clinical attachment level (CAL), keratinized tissue width (KTW), gingival thickness (GT) and aesthetic root coverage index (RES). The primary endpoint was mean root coverage (MRC). In addition, histological analysis of the gingiva 12 months after the treatments was performed to assess the effect of HA on the tissue and cellular architecture of the recipient area. All samples were stained with haematoxylin and eosin, Masson's trichrome, Verhoeff-van Gieson stain and Alcian Blue stain for semi-quantitative evaluation.

Results

Significant improvements in all assessed clinical and aesthetic parameters were observed in both groups at 6 and 12 months after surgical treatment. No significant difference in MRC was observed between the groups (MRC in the study group $84.32\% \pm 34.46$ and $85.71\% \pm 36.43$ in the control group, $p=0.9910$). Both treatments led to high aesthetic results (RES in the study group 9.51 ± 1.01 and 9.26 ± 1.10 in the control group, $p=0.7292$). The use of HA significantly improved the appearance of the soft tissue surface (STT) ($p=0.0091$). The other parameters included in the RES did not differ significantly between groups. Histological evaluation showed a significantly higher number of elastic fibers and a moderate increase in collagen fiber density in biopsy specimens taken from the study sites compared to control sites ($p=0.0419$ and $p=0.300$, respectively).

Conclusions

The study showed that the combination of the MCAT technique with SCTG is a very effective method for the treatment of multiple gingival recessions. The application of HA did not significantly affect the complete coverage of the recession but improved the appearance of the gingival surface. In addition, the use of HA resulted in increased elastic and collagen fibers in the recipient areas. The use of hyaluronic acid can be particularly beneficial in cases where aesthetics plays a key role.

IV. Wstęp uzasadniający połączenie publikacji w cykl

Recesje dziąseł (GR) są częstym problemem stomatologicznym, dotyczącym pacjentów w każdym wieku [1,2]. Częstość występowania recesji sięga 70% u osób w wieku powyżej 50 lat. [3]. W wyniku GR dochodzi do przesunięcia brzegu dziąsła w kierunku apikalnym, co prowadzi do odsłonięcia powierzchni korzenia zęba. Etiologia recesji jest wieloczynnikowa, a wśród głównych przyczyn należy wymienić nieprawidłową higienę jamy ustnej, zbyt traumatyczne szczotkowanie zębów, przewlekłe zapalenie przyzębia i czynniki jatrogenne [4]. Nielezione recesje dziąseł mogą prowadzić do nadwrażliwości, ubytków niepróchnicowego pochodzenia, próchnicy korzeni oraz problemów estetycznych [4].

Współczesna klasyfikacja recesji dziąseł ocenia położenie przyczepu klinicznego (CAL) [5]. Według Cairo i wsp. wyróżnia się trzy typy recesji: typ 1 (RT1) bez utraty przyczepu na powierzchniach stycznych; typ 2 (RT2), gdy utrata przyczepu na powierzchniach stycznych jest mniejsza niż utrata przyczepu na powierzchni policzkowej; typ 3 (RT3), gdy utrata przyczepu na powierzchniach stycznych jest większa niż utrata przyczepu na powierzchni policzkowej.

Leczenie recesji dziąseł ma na celu odbudowę utraconych tkanek miękkich i poprawę estetyki. Na przestrzeni wielu lat opracowano wiele metod leczenia chirurgicznego recesji dziąseł [6-10]. W ostatnim czasie coraz większą popularność zdobywa zmodyfikowana technika tunelowa (MCAT), która polega na przesunięciu płata w kierunku koronowym bez konieczności wykonywania cięć brodawek dziąsłowych. Technika ta charakteryzuje się mniejszym urazem dla tkanek oraz szybszym gojeniem [7]. Dodatkowo, połączenie MCAT z przeszczepem podnabłonkowej tkanki łącznej (SCTG) zapewnia stabilne i długotrwałe wyniki leczenia pojedynczych i mnogich GR, co wykazał najnowszy przegląd systematyczny. MCAT+SCTG pozwalał na uzyskanie średniego pokrycia korzenia (MRC) rzędu $82,75\% \pm 19,7\%$ w przypadku pojedynczych GR i $87,8\% \pm 16,45\%$ w przypadku mnogich GR [11]. Kolejna metaanaliza wykazała, że technika tunelowa pozwalała na uzyskanie lepszych wyników estetycznych ocenionych za pomocą wskaźnika pokrycia korzenia (RES) w porównaniu z techniką płata przesuniętego koronowo (CAF) ($0,84$ [95% CI = $0,15-1,53$]; $p=0.01$) [12].

W celu poprawy gojenia tkanek miękkich w periodontologicznych zabiegach plastycznych, badano różne biomateriały, wśród których szczególną uwagę zwrócono na

przeszczepy bezkomórkowej matrycy skórnej (ADM), matryce ksenogenne (XDM), pochodne macierzy szkliska (EMD), fibrynę bogatopłytkową (PRF) i kwas hialuronowy (HA) [13-19]. Hialuronian jest polisacharydem o wysokiej masie cząsteczkowej obecnym w macierzy zewnątrzkomórkowej wielu tkanek organizmu człowieka. HA występuje we wszystkich tkankach przyzębia brzęznego [20-22]. Ze względu na swoje właściwości higroskopijne, główną rolą HA jest wiązanie wody i umożliwienie transportu kluczowych metabolitów pomiędzy komórkami, co pozwala na utrzymanie integralności tkankowej [20]. Wykazano, że HA indukuje angiogenezę, stymuluje tworzenie skrzepu krwi i zwiększa potencjał komórek zaangażowanych w procesy gojenia ran i regeneracji [21,22]. Zastosowanie kwasu hialuronowego może zmniejszać ryzyko powstawania blizn, co jest szczególnie ważne w obszarze estetycznym [23,24].

Cykl przedstawia wyniki 3 prac oryginalnych oraz 1 pracy kazuistycznej dotyczących tematu leczenia mnogich recesji dziąseł z wykorzystaniem usieciowanego kwasu hialuronowego:

1. Tunnel technique with cross-linked hyaluronic acid in addition to subepithelial connective tissue graft, compared with connective tissue graft alone, for the treatment of multiple gingival recessions: 6-month outcomes of a randomized clinical trial [25]
2. Tunnel technique and subepithelial connective tissue graft, with or without cross-linked hyaluronic acid, in the treatment of multiple gingival recessions: 12-month outcomes of a randomized clinical trial [26]
3. Tunnel Technique and Subepithelial Connective Tissue Graft, With or Without Cross-Linked Hyaluronic Acid, in the Treatment of Multiple Gingival Recessions: Prognostic Parameters for Clinical Treatment Outcomes of Randomized Controlled Trial [27]
4. Leczenie mnogich recesji dziąsłowych z zastosowaniem zmodyfikowanej techniki tunelowej z przeszczepem podnabłonkowej tkanki łącznej i kwasu hialuronowego – opis przypadku [28]

Celem prac 1 i 2 była ocena wpływu użycia kwasu hialuronowego na wyniki kliniczne i estetyczne leczenia mnogich recesji dziąseł za pomocą MCAT+SCTG po 6 i po 12 miesiącach. Ponadto po 12 miesiącach wykonano badanie histologiczne tkanek obszarów biórczych i zweryfikowano wpływ HA na strukturę tkankową dziąsła.

Celem pracy 3 było zidentyfikowanie i określenie potencjalnych przedoperacyjnych czynników prognostycznych wpływających na wyniki kliniczne i estetyczne po 12 miesiącach od leczenia chirurgicznego mnogich recesji dziąseł za pomocą MCAT+SCTG+HA.

Celem pracy kazuistycznej było przedstawienie przypadku leczenia zaawansowanych mnogich recesji dziąseł w szczęcie oraz w żuchwie z wykorzystaniem zmodyfikowanej techniki tunelowej, przeszczepu podnabłonkowej tkanki łącznej i usieciowanego kwasu hialuronowego.

V. Założenia, cele i hipotezy badawcze

Główne cele pracy:

1. Ocena wpływu HA na efekty kliniczne po 6 i po 12 miesiącach od leczenia chirurgicznego mnogich recesji dziąseł za pomocą zmodyfikowanej techniki tunelowej (MCAT) i przeszczepów podnabłonkowej tkanki łącznej (SCTG),
2. Ocena wpływu HA na parametry estetyczne po 6 i po 12 miesiącach od leczenia chirurgicznego mnogich recesji dziąseł za pomocą MCAT i SCTG,
3. Ocena wpływu HA na budowę tkankową i komórkową dziąsła po 12 miesiącach od leczenia chirurgicznego,
4. Ocena wpływu HA na subiektywne odczucia pacjentów w okresie pozabiegowym przy pomocy kwestionariuszy wizualnej skali analogowej (VAS),
5. Analiza zastosowania HA na satysfakcję pacjentów po 6 i 12 miesiącach od leczenia chirurgicznego przy pomocy kwestionariuszy VAS,
6. Określenie potencjalnych przedoperacyjnych czynników prognostycznych dla wyników klinicznych i estetycznych po 12 miesiącach od leczenia chirurgicznego mnogich recesji dziąseł za pomocą MCAT, SCTG i HA.

Hipoteza badawcza zakładała, że różnica pomiędzy pierwszorzędowymi punktami końcowymi badania (odsetek średniego pokrycia korzenia - MRC) nie będzie istotna statycznie pomiędzy grupą badaną (MCAT+SCTG+HA), a grupą kontrolną (MCAT+SCTG) w ocenianych punktach czasowych.

VI. Omówienie prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej

Projekt badania

Badanie zostało zaprojektowane jako randomizowane badanie kliniczne typu *split-mouth*. Po jednej stronie łuku wykonano zabieg MCAT+SCTG z dodatkiem kwasu hialuronowego (HA, grupa badana), a po drugiej stronie MCAT+SCTG bez HA (grupa kontrolna). Do badania włączono 24 pacjentów, u których zdiagnozowano mnogie recesje dziąseł typu RT1 i RT2 [5]. Rekrutację prowadzono wśród dorosłych osób, które zgłaszały się do Zakładu Chorób Błony Śluzowej i Przyzębia Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego między kwietniem 2021 roku, a majem 2022 roku. Protokół badania został zatwierdzony przez Komisję Bioetyczną (KB/119/2021). Badanie zarejestrowano na ClinicalTrials.gov (numer rejestracji NCT05045586).

W pierwszej publikacji zostały ocenione parametry kliniczne, estetyczne oraz subiektywne wrażenia pacjentów po 6 miesiącach od przeprowadzonego leczenia. W drugiej publikacji, poza oceną kliniczną i estetyczną, wykonano badanie histologiczne tkanek dziąsła po 12 miesiącach od leczenia chirurgicznego. Trzecia publikacja skupiła się na określeniu potencjalnych przedzabiegowych czynników prognostycznych mających wpływ na wyniki leczenia chirurgicznego recesji.

Pierwszorzędowym punktem końcowym badania był MRC po 6 i 12 miesiącach od leczenia chirurgicznego recesji. Drugorzędowe punkty końcowe obejmowały: zmniejszenie wysokości recesji (GR_{red}), zysk klinicznego położenia przyczepu (CAL), zwiększenie szerokości tkanki zrogowaciałej (KTW), zwiększenie grubości dziąsła (GT) i poprawę estetyki pokrycia korzeni (RES).

Kryteria włączenia i wykluczenia

Kryteria włączenia obejmowały:

- (1) mnogie RT1 i/lub RT2 o wysokości co najmniej 1 mm, zlokalizowane przy zębach górnych i dolnych [5],
- (2) wskaźnik płytki nazębnej (FMPS) <20% [29],
- (3) wskaźnik krwawienia podczas sondowania (FMBOP) <20% [30],

- (4) zachowane połączenie szklino- cementowe (CEJ),
- (5) wiek co najmniej 18 lat.

Kryteria wykluczenia obejmowały:

- (1) recesje dziąseł typu III (RT3),
- (2) aktywna choroba przyzębia,
- (3) zmiany próchnicowe lub wypełnienia w okolicy przyszyjkowej,
- (4) choroby ogólnoustrojowe wpływające na potencjał gojenia lub aktywne choroby zakaźne,
- (5) stosowanie leków wpływających na stan przyzębia,
- (6) palenie tytoniu,
- (7) ciąża lub laktacja.

Wielkość próby

Analiza mocy została oparta na badaniu przeprowadzonym przez Nandanwar et al. [17], zgodnie z którym zastosowanie HA zwiększyło MRC o około 8,92% w porównaniu z grupą kontrolną. Zakładając SD $\pm 7,39\%$, poziom istotności 0,05 i moc 80%, wymagana minimalna liczebność grupy wyniosła 12 pacjentów. Do badania włączono 24 pacjentów.

Randomizacja i alokacja

Randomizacja została przeprowadzona za pomocą wygenerowanej komputerowo listy randomizacyjnej. Bezpośrednio przed zabiegiem operator był informowany o sposobie leczenia prawej strony jamy ustnej, która zawsze była leczona jako pierwsza. Następnie lewa strona jamy ustnej była leczona metodą przeciwną.

Leczenie chirurgiczne

Wszystkie zabiegi chirurgiczne zostały wykonane przy użyciu techniki MCAT+SCTG przez jednego, doświadczonego chirurga (BG) [31]. W znieczuleniu miejscowym preparowano płat pełnej grubości do linii śluzówkowo-dziąsłowej (MGJ) oraz płat dzielony poza MGJ. Z błony śluzowej podniebienia pobierano przeszczep nabłonkowo-łącznotkankowy, który poddano deepitelializacji poza jamą ustną w celu przygotowania SCTG [32]. Wysokość SCTG wynosiła 4 mm, długość była zgodna z długością wypreparowanego tunelu, a jego grubość była

mniejsza niż 1 mm. W grupie badanej pod płat aplikowano usieciowany kwas hialuronowy (HA, hyaDENT BG, Bioscience, Niemcy), pokrywając powierzchnię korzeni i otaczające tkanki miękkie przed wprowadzeniem przeszczepu do tunelu [19]. SCTG wprowadzano do tunelu i stabilizowano za pomocą szwów resorbowalnych na wysokość CEJ zębów. W kolejnym kroku płat stabilizowano w położeniu koronowym, dążąc do całkowitego pokrycia SCTG płatem. Po stronie kontrolnej zastosowano tę samą metodę leczenia, ale bez użycia HA.

Opieka pozabiegowa i wizyty kontrolne

Wizyty kontrolne odbywały się po 7 i 14 dniach, następnie po 1, 3, 6 i 12 miesiącach. W dniu zabiegu pacjenci zostali poproszeni o wypełnienie kwestionariuszy oceniających dyskomfort pooperacyjny, a także ból i obrzęk po 1, 2, 4, 7 i 14 dniach od leczenia chirurgicznego.

Pomiary kliniczne

Parametry kliniczne zostały oceniane przed zabiegiem, a także po 6 i 12 miesiącach od leczenia chirurgicznego przez skalibrowanego badacza nieświadomego przydziału grupy (IS). Przy pomocy sondy periodontologicznej (sonda UNC 15 mm, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA) oceniano następujące parametry kliniczne:

- (1) wysokość recesji dziąsła (GRH): odległość od CEJ do brzegu dziąsła po stronie policzkowej centralnie,
- (2) szerokość recesji dziąsła (RW): pozioma odległość mierzona między mezjalnym i dystalnym brzegiem recesji na wysokości CEJ,
- (3) głębokość sondowania (PPD): odległość od brzegu dziąsła do miejsca, w którym zatrzymuje się sonda,
- (4) kliniczne położenie przyczepu (CAL): odległość od CEJ do dna szczeliny dziąsłowej,
- (5) szerokość tkanki zrogowaciałej (KTW): odległość między brzegiem dziąsła a połączeniem śluzówkowo-dziąsłowym (MGJ),
- (6) grubość dziąsła (GT): mierzona po stronie policzkowej zęba 3 mm apikalnie względem brzegu dziąsła, przy użyciu pilnika endodontycznego 25 ISO (Poldent, Warszawa, Polska) ze stoperem ustawionym prostopadłe do dziąsła, aż do osiągnięcia powierzchni korzenia lub kości wyrostka zębodołowego.

Pomiar odczytywano przy użyciu suwmiarki elektronicznej (YATO YT-7201, Toya, Wrocław, Polska) z dokładnością do 0,01 mm.

Ocena estetyczna i ocena subiektywna pacjentów

Po 6 i 12 miesiącach od zabiegów oceniano wyniki estetyczne leczenia za pomocą wskaźnika RES na podstawie wykonanych zdjęć fotograficznych (MS) [33]. Oceniano następujące parametry estetyczne, które składały się na ocenę RES:

- (1) położenie brzegu dziąsła (GM),
- (2) powierzchnia tkanek miękkich (STT),
- (3) przebieg połączenia śluzówkowo-dziąsłowego (MGJ),
- (4) kontur brzegu dziąsła (MTC),
- (5) kolor dziąsła (GC).

Dla parametrów: STT, MGJ, MTC, GC zastosowano skalę 0-1, dla parametru GM 0-3-6. Maksymalna suma RES wynosiła 10.

Wyniki zgłaszane przez pacjentów dotyczące estetyki i ogólnego zadowolenia z zabiegów oceniano za pomocą kwestionariuszy przekazanych pacjentom 6 i 12 miesięcy od leczenia. Pytania zostały zaprojektowane w sposób dychotomiczny (tak lub nie). Do oceny zadowolenia z estetyki wykorzystano wizualną skalę analogową (VAS). Pytania obejmowały ocenę estetyczną: koloru dziąsła, konturu tkanek miękkich, pokrycia recesji oraz „Jak bardzo Pani/Pan jest zadowolony z efektów leczenia chirurgicznego?”, „Czy zdecydowałaby się Pani/Pan jeszcze raz na takie leczenie?”, „Czy poleciłaby Pani/Pan leczenie innym pacjentom?”.

Pobranie biopsji do badania histologicznego i ocena histologiczna

Po 12 miesiącach od leczenia chirurgicznego wykonano analizę histologiczną u 17 pacjentów, którzy wyrazili pisemną zgodę na pobranie biopsji.

Materiał biopsyjny dziąsła w obszarach badanych pozyskano za pomocą 3-milimetrowego narzędzia biopsyjnego. Materiał utrwalono w 10% roztworze zbuforowanej formaliny i przekazano do Zakładu Patomorfologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Próbki zostały wysuszone i zanurzone w bloczkach parafinowych, które pocięto na skrawki o grubości 3 mikrometrów. Wykonano następujące barwienia:

- hematoksyliną i eozyną (H&E) do badania morfologicznego,
- trichromem Massona (MT) do oceny włókien kolagenowych,
- barwnikiem Verhoeff-van Giesona (EVG) do oceny włókien elastynowych,
- błękitem alcjańskim (AB) do oceny mukopolisacharydów macierzy zewnątrzkomórkowej.

Z każdej próbki losowo wybrano jeden wycinek histologiczny, który został zbadany przez doświadczonego patologa, który nie był świadomy przydziału grupy (ŁF). Materiał oceniano półilościowo w dwuklasowym systemie punktacji jako: + (niska gęstość włókien kolagenowych/ liczba włókien elastynowych/ ilość mukopolisacharydów macierzy) i ++ (średnia do wysokiej gęstość włókien kolagenowych/ liczba włókien elastynowych/ ilość mukopolisacharydów macierzy).

Analiza statystyczna

Oceniane parametry zostały obliczone w następujący sposób:

- (1) MRC (pierwszorzędowy punkt końcowy):
 - $MRC = ((GR0 - GR6) / GR0) \times 100\%$ (po 6 miesiącach),
 - $MRC = ((GR0 - GR12) / GR0) \times 100\%$ (po 12 miesiącach).
- (2) Zmniejszenie wysokości recesji (drugorzędowy punkt końcowy):
 - $GRred = GR0 - GR6$ (po 6 miesiącach),
 - $GRred = GR0 - GR12$ (po 12 miesiącach).
- (3) Zysk CAL (drugorzędowy punkt końcowy):
 - $CAL = CAL0 - CAL6$ (po 6 miesiącach),
 - $CAL = CAL0 - CAL12$ (po 12 miesiącach).
- (4) Zwiększenie KTW (drugorzędowy punkt końcowy):
 - $KTW = KTW6 - KTW0$ (po 6 miesiącach),
 - $KTW = KTW12 - KTW0$ (po 12 miesiącach).
- (5) Zwiększenie GT (drugorzędowy punkt końcowy):
 - $GT = GT6 - GT0$ (po 6 miesiącach),
 - $GT = GT12 - GT0$ (po 12 miesiącach).

Ocena istotności statystycznej różnic między grupą badaną i kontrolną zarówno w pierwszorzędowym punkcie końcowym (MRC), jak i w zmiennych wskazanych jako drugorzędowe punkty końcowe została wykonana za pomocą testu t-Studenta. W przypadku uzyskania wyników potwierdzających istotność statystyczną lub analizy zmiennych

obejmujących więcej niż dwie grupy, dodatkowo przeprowadzano analizę wariancji (ANOVA), aby ocenić wpływ grupy oraz potencjalnych interakcji między zmiennymi niezależnymi na zmienne zależne. Weryfikację zgodności rozkładów w przypadku zmiennych kategorycznych między obiema grupami przeprowadzono za pomocą testu chi-kwadrat Pearsona.

Do oceny wartości predykcyjnych czynników przedoperacyjnych dla wyników po 12 miesiącach zastosowano modele regresji logistycznej. W celu modelowania parametry kliniczne zostały skategoryzowane w następujący sposób:

- (1) MRC: $\leq 85\%$ (grupa niska) i $> 85\%$ (grupa wysoka),
- (2) Kompletnie pokrycie korzenia (CRC): zmienna binarna,
- (3) RES: ≤ 9 (grupa niska) i 10 (grupa wysoka),
- (4) Zwiększenie KTW: ≤ 3 mm (grupa niska) i > 3 mm (grupa wysoka),
- (5) Zwiększenie GT: ≤ 2 mm (grupa niska) i > 2 mm (grupa wysoka).

Jako zmienne niezależne uwzględniono: zastosowanie HA, rodzaj zęba (siecny/kiel/przedtrzonowy/trzonowy), pozycję zęba (szczeka/zuchwa), PPD, CAL, GRH, RW, KTW, GT oraz typ recesji przedoperacyjnej. Wszystkie powyższe parametry przeanalizowano za pomocą modeli regresji logistycznej jednoczynnikowej. Następnie zbudowano wieloczynnikowe modele regresji logistycznej z wykorzystaniem metody krokowej postępującej (*stepwise forward*), przeprowadzając V-krotną walidację krzyżową oraz oceniając dopasowanie modeli za pomocą testu Hosmera–Lemeshowa. Ponadto wykonano wielowymiarową analizę korespondencji w celu potwierdzenia zależności między zmiennymi jakościowymi.

Dla wszystkich analiz istotność statystyczną określono na poziomie $\alpha=0,05$.

Wyniki

Dwunastomiesięczne MRC wyniosło 84,32% dla grupy badanej (MCAT+ SCTG+HA) i 85,71% dla grupy kontrolnej (MCAT+SCTG, $p = 0,9910$). W odniesieniu do pozostałych ocenianych parametrów klinicznych, mianowicie GR_{red} , zysku CAL, zwiększenia GT i zwiększenia KTW, obie metody leczenia pozwoliły na osiągnięcie znaczącej poprawy po 6 i po 12 miesiącach od leczenia. Nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic w ocenianych

parametrach klinicznych pomiędzy grupami. Wyniki po 12 miesiącach nie różniły się statystycznie od wyników po 6 miesiącach od leczenia.

W obu grupach zaobserwowano znaczącą poprawę ocenianych parametrów estetycznych. Dwunastomiesięczne wartości RES nie wykazywały statystycznie istotnych różnic między MCAT+SCTG+HA i MCAT+SCTG (odpowiednio $9,51 \pm 1,01$ i $9,26 \pm 1,10$, $p = 0,7292$). Porównując powierzchnie tkanek miękkich (STT), zastosowanie HA skutkowało osiągnięciem znacznie wyższej wartości dla tej zmiennej w grupie badanej ($0,96 \pm 0,20$ dla MCAT+SCTG+HA i $0,73 \pm 0,22$ dla MCAT+SCTG, $p = 0,0091$).

Na podstawie kwestionariuszy VAS nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic między grupą kontrolną i badaną w natężeniu bólu i obrzęku zgłaszanych przez pacjentów. Aplikacja HA nie wpływała na zgłaszane przez pacjentów odczucia subiektywne we wczesnym okresie pozabiegowym

Wyniki oceny VAS ogólnej satysfakcji pacjentów były bardzo pozytywne. Ponadto wszyscy ankietowani pacjenci zadeklarowali, że gdyby mieli taką możliwość, powtórzyliby zabieg i poleciliby jego wykonanie innym osobom. Aplikacja HA nie wpływała na ocenę satysfakcji pacjentów z podjętego leczenia.

W biopsjach wybarwionych MT w obu grupach ogólna liczba włókien kolagenowych była wyższa niż w normalnej tkance łącznej błony śluzowej. Odnotowano tendencję w kierunku większej gęstości włókien kolagenowych w grupie badanej (11/17 biopsji ocenionych na ++), w porównaniu z grupą kontrolną (8/17 biopsji ocenionych na ++), jednak różnica nie była istotna statystycznie. Barwienie Verhoeffa-van Giesona wykazało, że w grupie badanej włókna elastynowe były obecne w umiarkowanej lub dużej ilości (++) w 12 z 17 biopsji. W grupie kontrolnej włókna elastynowe były widoczne (++) w 7 z 17 biopsji i były nieobecne lub nieliczne (+) w 10 biopsjach. Różnice te były istotne statystycznie.

Prawdopodobieństwo uzyskania MRC > 85%, osiągnięcia CRC i uzyskania RES = 10 było największe dla zębów siecznych (grupa referencyjna) i najniższe dla zębów trzonowych (OR = 0,046, $p = 0,005$). Z każdym wzrostem o 1 mm bazowego CAL wzrastało prawdopodobieństwo niepowodzenia (MRC < 85%, nieosiągnięcie CRC), podczas gdy każdy wzrost o 1 mm bazowego KTW zwiększał szansę MRC > 85%, osiągnięcia CRC i RES = 10.

Zastosowanie HA zwiększało prawdopodobieństwo idealnego RES ponad dwukrotnie (OR = 2,683, $p = 0,001$).

VII. Podsumowanie i wnioski

Badanie zawarte w cyklu publikacji dowodzi wysokiej skuteczności MCAT+SCTG w leczeniu mnogich recesji dziąseł RT1 i RT2, szczególnie w kontekście 12-miesięcznego pokrycia recesji oraz poprawy parametrów estetycznych. Dodatkowe zastosowanie HA może przyczyniać się do promowania wzrostu włókien elastynowych i kolagenowych, a także wpływać na bardziej estetyczną powierzchnię odtwarzanych tkanek miękkich (brak widocznych blizn pooperacyjnych).

Główne wnioski płynące z przeprowadzonego badania to:

1. Zastosowanie kwasu hialuronowego nie wpływało na poprawę parametrów klinicznych po 6 i po 12 miesiącach od leczenia chirurgicznego mnogich recesji dziąseł za pomocą zmodyfikowanej techniki tunelowej (MCAT) i przeszczepów podnabłonkowej tkanki łącznej (SCTG),
2. Zastosowanie kwasu hialuronowego poprawiało wygląd powierzchni tkanek miękkich (STT), ale nie wpływało na inne parametry estetyczne,
3. Użycie HA mogło przyczyniać się do umiarkowanego wzrostu gęstości włókien kolagenowych i znaczącego zwiększenia włókien elastynowych po 12 miesiącach od leczenia chirurgicznego,
4. Zastosowanie kwasu hialuronowego nie miało wpływu na dolegliwości w okresie pozabiegowym (ból/obrzęk),
5. Zastosowanie HA nie miało wpływu na satysfakcję pacjentów z podjętego leczenia oraz nie zmieniało percepcji osiągniętych efektów estetycznych,
6. Typ zęba, bazowe CAL i bazowe KTW były istotnymi czynnikami prognostycznymi uzyskanych efektów po 12-miesięcach od leczenia chirurgicznego:
 - I. Zęby sieczne miały najwyższe szanse uzyskania $MRC > 85\%$, osiągnięcia CRC i maksymalnego RES,
 - II. Wraz ze wzrostem bazowego CAL rosło prawdopodobieństwo niepowodzenia ($MRC < 85\%$, brak CRC),
 - III. Wraz ze wzrostem bazowego KTW rosły szanse na uzyskanie $MRC > 85\%$, osiągnięcie CRC i maksymalnego RES.

VIII. Kopie opublikowanych prac

Powielono za zgodą Springer Nature. / Reproduced with permission from Springer Nature.

Clinical Oral Investigations
<https://doi.org/10.1007/s00784-023-04887-6>

RESEARCH



Tunnel technique with cross-linked hyaluronic acid in addition to subepithelial connective tissue graft, compared with connective tissue graft alone, for the treatment of multiple gingival recessions: 6-month outcomes of a randomized clinical trial

Bartłomiej Górski¹ · Izabela Skierska¹ · Marcin Szerszeń² · Katarzyna Mańka-Malara²

Received: 29 November 2022 / Accepted: 29 January 2023

© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2023

Abstract

Objectives The aim of this study was to investigate differences in clinical and esthetic outcomes in the treatment of multiple gingival recession types 1 and 2, using the modified coronally advanced tunnel technique (MCAT) combined with subepithelial connective tissue graft (SCTG), with or without cross-linked hyaluronic acid (HA).

Materials and methods A total of 24 patients with 266 multiple gingival recessions (GR) were enrolled in the study (133 recessions per group). MCAT was combined with SCTG and HA on the test side, while MCAT with SCTG was used on the control side. Clinical parameters were measured at baseline and 6 months post-operatively. Visual analogue scales (VAS) and questionnaires were used to assess patient-rated outcomes, and the root coverage esthetic score (RES) was used for professional esthetic evaluation.

Results No significant improvement in root coverage was observed as a result of adding HA. After 6 months, mean root coverage (MRC) was 85% for SCTG + HA group and 83% for SCTG group ($p = 0.9819$). Complete root coverage (CRC) was observed in 91% (test) and 93% (control) of the cases ($p = 0.9001$). Professional assessment of soft tissue texture (STT) using RES showed a significant difference (0.94 versus 0.69, $p = 0.0219$) in favor of the experimental group.

Conclusions Both treatments were similarly effective in treating multiple GRs and led to comparable improvements in clinical parameters. However, application of HA improved the appearance of soft tissue texture.

Clinical relevance Adjunctive application of HA in the MCAT + SCTG procedure may improve STT results.

Keywords Hyaluronic acid · Esthetics · Multiple gingival recessions · Modified coronally advanced tunnel technique · Subepithelial connective tissue graft

Introduction

Gingival recession (GR) is defined as an apical shift of the gingival margin in relation to the cemento-enamel junction (CEJ) with accompanying exposure of the root surface [1]. Buccal exposure can lead to hypersensitivity, caries, and non-carious cervical lesions, as well as esthetic impairment [2–4]. These defects may be caused by precipitating and

predisposing factors, such as improper traumatic toothbrushing technique, frenum pull, malposition of the tooth, periodontal disease, or orthodontic treatment [5].

Recent papers have demonstrated that GR is a common condition in the population, but its incidence and severity is highly heterogeneous and depends on factors such as country, socioeconomic background, and age, among others [3, 6–8]. Particular factors were correlated with the likelihood of recession of a particular type. For example, older age when combined with high education level and lower percentage of plaque favored the occurrence of RT1 type recession, while older age, severe periodontitis, low education, and poor oral hygiene were associated with RT2 and RT3 recessions [8]. However, studies on which type of recession

✉ Izabela Skierska
iza.mikolajczak95@gmail.com

¹ Department of Periodontology and Oral Mucosa Diseases, Medical University of Warsaw, 02097 Warsaw, Poland

² Department of Prosthodontics, Medical University of Warsaw, 02097 Warsaw, Poland

is most prevalent in general have so far been inconclusive [8, 9].

According to Cairo [10], gingival recession can be classified in the following way based on interproximal clinical attachment loss: recession type 1 (RT1) with no loss of interdental attachment; recession type 2 (RT2) when interdental attachment loss is smaller than buccal attachment loss; recession type 3 (RT3) when interdental attachment loss is greater than buccal attachment loss.

There are various methods of gingival recession treatment [5, 11–15]. For the past couple of years, the tunnel technique, originally described by Zabalegui [16], has become increasingly popular. This was mostly due to the fact that this method allows for the avoidance of vertical incisions, which produces better clinical and esthetic outcomes thanks to a faster healing process and better blood supply [17]. Since its invention, this method has been modified by numerous clinicians [13, 18–23]. The most recent research has proven that the efficiency of the tunnel technique is particularly high when applied to the treatment of multiple GRs [24].

More recently, hyaluronic acid has found application in periodontal soft tissue reconstructive surgery [25, 26]. Hyaluronan is a high-molecular-weight polysaccharide component present in the extracellular matrix of many tissues (e.g., synovial joints, skin, periodontium). HA has been found in all periodontal tissues, in greater amounts in non-mineralized tissues such as the periodontal ligament and gingiva, and in minor amounts in mineralized tissues such as cementum and alveolar bone [27]. Due to its hygroscopic properties, the main role of HA is to bind water and allow for transport of key metabolites between cells, thus maintaining tissue integrity [28]. HA has been shown to induce angiogenesis, stimulate blood clot formation, and increase the potential of cells involved in wound healing and regeneration [29]. In addition, due to its bacteriostatic properties, the use of HA reduces the risk of post-operative infection [30]. The use of HA during the procedure can also have a positive effect on post-operative discomfort by reducing patient's pain and swelling [31, 32]. The use of hyaluronic acid can also contribute to the process of healing without scar formation, which is particularly important in the esthetic area [32]. Considering all the above-mentioned factors, it can be assumed that the use of acid when covering gingival recessions will also have a positive effect on the clinical and esthetic results of such a treatment.

The aim of this study was to assess the impact of using HA in the treatment of multiple gingival recessions with MCAT and SCTG on the clinical and esthetic results after 6 months. Additionally, the study also verified whether it is possible to reduce the level of healing-related morbidity and improve esthetic parameters by adding HA to SCTG. Mean root coverage (MRC) at 6 months after performing surgery was considered as a primary outcome variable, while GR

reduction, gain in clinical attachment level (CAL), and improvement in keratinized tissue thickness (KTW) as well in gingival thickness (GT), RES score, and patient's questionnaire results were secondary outcome variables.

Materials and methods

Study design and ethical considerations

This research was designed as a split-mouth randomized controlled clinical trial and was performed in accordance with current standards of clinical research (CONSORT guidelines) (<http://www.consort-statement.org>). The study protocol was registered with ClinicalTrials.gov, Registration number: NCT05045586. Two different treatment groups were compared: modified coronally advanced tunnel combined with hyaluronic acid (MCAT plus HA) as a test group and MCAT alone as a control group.

Participants of the study were 24 adult subjects (5 males and 19 females), aged between 19 and 50, who were referred to the Department of Periodontology and Oral Mucosa Diseases of Medical University of Warsaw between April 2021 and May 2022. The study protocol was approved by the Bioethics Committee (KB/119/2021). Informed consent was obtained from all participants, and all methods were performed in accordance with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in Tokyo in 2013. The CONSORT diagram of this study is presented in Fig. 1.

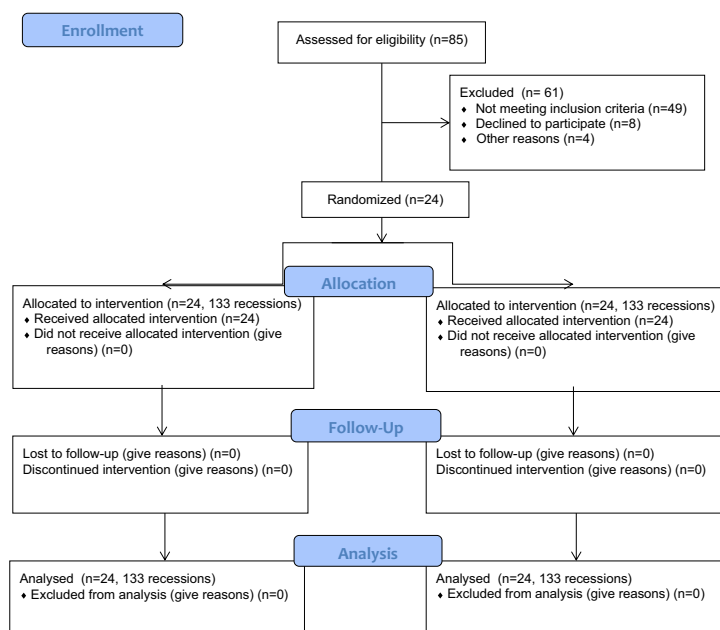
Inclusion and exclusion criteria

The inclusion criteria were (1) multiple RT1s and/or RT2s at least 1 mm deep; (2) full-mouth plaque score (FMPS) and full-mouth bleeding on probing (FMBOP) < 15%; and (3) detectable cemento-enamel junction (CEJ); (4) age ≥ 18 years.

The exclusion criteria were (1) gingival recessions of type III (RT3); (2) systemic and infectious diseases affecting healing; (3) caries lesions or restorations in the cervical area; (4) active periodontitis; (5) use of medications affecting periodontal status; (6) smoking; and (7) pregnancy or lactation.

Clinical measurements

One fully blinded examiner (IS) was responsible for the assessment of the clinical parameters. Clinical measurements were collected before treatment and 6 months thereafter for each tooth separately, using a calibrated periodontal probe (UNC 15, Hu-Friedy, Chicago, IL). A calibration exercise was conducted before collecting measurements from patients included in the study. Eight non-study patients

Fig. 1 Consort diagram showing study design

with at least 4 contralateral teeth with recessions were included in the exercise. A designated investigator assessed the parameters within a 24-h interval. Calibration was completed when $\geq 90\%$ of the records could be reproduced within a range of a 1.0 mm difference, and exact agreement was repeated in 75% of the measurements. The following parameters were examined for each recession separately: (1) gingival recession height (GR), distance at the mid buccal site of the inspected tooth measured from CEJ to the gingival margin; (2) gingival recession width (RW), horizontal distance measured between the mesial and distal margin of the recession at CEJ level; (3) probing pocket depth (PPD), distance from the gingival margin to the bottom of the gingival sulcus; (4) clinical attachment level (CAL), distance from CEJ to the bottom of the gingival sulcus; (5) keratinized tissue width (KTW), distance between the gingival margin and the mucogingival junction (MGJ); (6) gingival thickness (GT), measured at buccal side of the tooth 3 mm apically starting from the gingival margin using endodontic file 25 ISO (Polident, Warsaw, Poland) with a stopper positioned perpendicularly to the gingiva until the root surface or the alveolar bone was reached, an electronic caliper (YATO YT-7201, Toya, Wrocław, Poland), with 0.01-mm accuracy was used to measure the GT value; (7) FMPS, share of surfaces with plaque presence; and (8) FMBOP, share of points that bled after gentle probing. The aforementioned

parameters were collected again after 6 months. In addition, the percentage of recession coverage was measured.

Sample size calculation

According to a study by Nandanwar, adding HA to a treatment of multiple gingival recession using polylactic acid/polyglycolic acid membrane and subepithelial connective tissue graft may increase the mean root coverage by approximately 8.92% when compared to the group of patients to whom no HA was applied [33]. Consequently, the sample size calculation determined that 12 subjects per treatment group would provide 80% power to disclose a true difference of above-mentioned value (8.92%) between the test and control groups, assuming 7.39% as the common standard deviation and 0.05 as the level of significance. However, considering that some patients could be lost during follow-up, 24 patients per each group were enrolled.

Randomization and allocation concealment

Randomization of the study was performed prior to surgery by an uninvolved researcher who used a computer-generated randomization list. The allocation concealment was carried out in sealed, opaque envelopes that were only revealed to the operator before the surgery was performed. Once the

envelope was opened, the treatment modality was revealed for the side treated first during surgery (always the right-hand side). Thus, the left-hand side was treated in accordance with the opposite treatment modality. The patient was not given any information about the treatment allocation.

Surgical treatment

All procedures were performed by a single experienced surgeon (BG) in the same institution (Department of Periodontology and Oral Mucosa Diseases of Medical University of Warsaw), using the modified coronally advanced tunnel technique [18]. Both sides (tested and control) were treated at the same appointment, with the treatment always starting from the right-hand side. Following local anesthesia using 4% articaine hydrochloride with adrenaline (1:100,000) (Septanest, Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, France), the surgical area was prepared as a full-thickness flap up to MGJ with a small elevator. Then, using tools for the tunneling technique, the area was dissected as a split-thickness flap above MGJ. The papillas of the teeth with recessions, as well as neighboring teeth in their buccal area, were detached with periosteum to achieve coronal advancement of the flap. Gentle root planning was performed with a curette (Gracey Curettes, Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). Then, a free gingival graft (FGG) was harvested from the palate and deepithelialized outside the mouth. Length of received SCTG corresponded to the length of prepared tunnel, its width was 4 mm, and its thickness was less than 1 mm. Donor site was secured with hemostatic collagen sponge and cross mattress sutures (Seralon 4/0 18 mm 3/8, Serag-Wiessner GmbH & Co. KG, Naila, Germany). For the test side, cross-linked hyaluronic acid (HA, hyaDENT BG, Bioscience, Germany) was applied under the flap, covering the root surface and the surrounding soft tissues before inserting the graft into the tunnel [25]. HA was used according to the manufacturer's recommendations. For both sides, SCTG was used in one piece and placed into the tunnel. First, the graft was stabilized at CEJ level with resorbable sling sutures (PGA Resorba 6/0 11 mm 3/8, RESORBA Medical GmbH, Nürnberg, Germany), and HA was applied again on the entire surface of SCTG [25]. After SCTG was fully covered with the coronally advanced tunnel, non-resorbable monofilament sling sutures (Seralon 6/0 12mm3/8, Serag-Wiessner GmbH & Co) were performed to secure the flap as well as the graft. Control side was treated in the same manner, but no HA was used.

Post-operative instructions and evaluation of morbidity

After surgery, patients were given 400 mg of ibuprofen and instructed to take another dose 8 h later. Then, the adoption

of anti-inflammatory drugs depended on the occurrence of post-operative complaints. Patients were given written post-operative recommendations, which included avoiding brushing and flossing of the post-operative area. In addition, a 0.12% chlorhexidine digluconate rinse was prescribed to be used twice a day for the first 3 weeks. The sutures were removed after 14 days. Follow-up appointments were planned at intervals of 1, 2, and 4 weeks and then 3 and 6 months after surgery. Each control visit included professional supragingival plaque removal. The patients were instructed to brush using a post-surgical soft toothbrush and roll technique for 3 weeks after surgery. On the day of the surgery, patients were also asked to fill out self-report questionnaires assessing post-operative discomfort for each side. VAS (visual analogue scale) questionnaire included an assessment of pain and swelling on the 1st, 2nd, 4th, 7th, and 14th day after surgery, measured using a visual scale with extremes labeled "no pain or swelling" as score 0 (left) and "worst imaginable pain or swelling" as score 10 (right), respectively.

Evaluation of esthetics and patient satisfaction

Esthetic outcomes were evaluated 6 months after surgery by a single independent blinded investigator (MS) in accordance with RES [34] which is comprised of the following components: gingival margin (GM) (assessment rule: 0 points, root coverage failure; 3 points, partial root coverage; 6 points, complete root coverage); marginal tissue contour (MTC) (assessment rule: 0 points, irregular gingival margin, not following CEJ; 1 point, scalloped gingival contour, following CEJ); soft tissue texture (STT) (assessment rule: 0 points, scar formation; 1 point, absence of scars); mucogingival junction (MGJ) (assessment rule: 0 points, MGJ not aligned with the MGJ of adjacent teeth; 1 point, MGJ aligned with the MGJ of adjacent teeth); gingival color (GC) (assessment rule: 0 points, color does not match adjacent teeth; 1 point, color matches adjacent teeth).

These variables were compared and evaluated using photographic images taken before and 6 months after treatment. The ideal maximum esthetic score was 10.

Information on overall and esthetic satisfaction with the treatment was collected at a follow-up visit after 6 months, using VAS questionnaires.

Statistical analysis

The results were summarized using descriptive statistics such as mean values, standard deviations (SD), percentages, and frequencies. The Shapiro–Wilk test proved the normality of distribution of quantitative variables which allow for the use of the Student's *t*-test to compare means between test and control groups. Similarly, Pearson's chi-square test

was used to compare fractions (percentages). The following metrics were calculated to evaluate the effectiveness of the treatment: (1) mean root coverage (MRC) = $GR0 - GR6 / GR0 \times 100\%$, (2) recession reduction = $GR0 - GR6$, (3) CAL gain = $CAL0 - CAL 6$, (4) KTW gain = $KTW6 - KTW0$, (5) GT gain = $GT6 - GT0$, and (6) avascular exposed root surface area (AERSA) = $GR \times RW$. The analyses were performed with 3.6.1 software (R Core Team 2021). For all analyses, statistical significance was established for $p < 0.05$.

Two logistic regression models were created to determine the parameters associated with increased likelihood of achieving perfect RES (equal to 10) and MRC ($> 85\%$), respectively. The following parameters were included in the models as independent variables: sex, the use of HA, tooth type (incisors/canines/premolars/molars), tooth position (upper/lower), GR, RW, AERSA, PPD, CAL, KTW, GT, and RT at baseline.

Results

Twenty four patients were enrolled in this study (5 males and 19 females), seventeen of them had 12 recessions, one of them had 11 recessions, two of them had 10 recessions, one of them had 9 recessions, two of them had 8 recessions, and one of them had 6 recessions. Apparently, the majority of included patients had 12 recessions meaning that during surgical procedure the whole dental arch was treated. Overall, 133 gingival recessions in the test group (SCTG + HA group) and 133 gingival recessions in the control group (SCTG group) were treated. The following teeth were included in the study: upper incisors (68), canines (36), premolars (70), first molars (36), and lower incisors (16), canines (10), premolars (20), first molars (10). During this study, no significant healing complications were reported, and there were no resignations. Details of baseline data are presented in Table 1.

Prior to surgery, no significant discrepancies were observed between the test group and the control group regarding any of the assessed parameters. Details of the clinical outcomes at baseline and 6 months later are presented in Table 2. Significant reduction in GR, RW, and CAL parameters were noticed in both groups, comparing baseline to 6 months follow-up parameters. However, no statistically significant differences between treated groups were observed. No statistically significant difference was reported in PDD values between the treated groups. On top of that, there was a significant decrease in the GR height both in the test group (from 1.77 ± 1.13 at baseline to 1.11 ± 0.41 at 6-month follow-up examination), as well as in the control group (from 1.67 ± 1.12 at baseline to 0.09 ± 0.38 at 6-month follow-up examination). At the same time, no statistically significant differences between the two groups were

Table 1 Characteristics for the study groups

Variables	Test group (SCTG + HA) (<i>N</i> = 24; <i>n</i> = 133)	Control group (SCTG) (<i>N</i> = 24; <i>n</i> = 133)
Sex (<i>n</i>)		
Women	19	19
Men	5	5
Tooth type (<i>n</i>)		
Incisors	42	42
Canines	23	23
Premolars	45	45
Molars	23	23
Tooth position (<i>n</i>)		
Maxillary teeth	105	105
Mandibular teeth	28	28
Type of GR according to Cairo (<i>n</i> , %)		
RT1	59 (44%)	54 (41%)
RT2	74 (56%)	79 (59%)

N number of patients, *n* number of defects, SCTG subepithelial connective tissue graft, HA hyaluronic acid, GR gingival recession, RT recession type

identified in terms of a percentage of MRC (0.85 ± 0.34 in the test group and 0.83 ± 0.35 in the control group) or a percentage of CRC (0.91 ± 0.29 in the test group and 0.93 ± 0.26 in the control group). Both treatments resulted in a significant increase in GT on both sides (GT from 1.68 ± 0.72 to 2.74 ± 0.80 on SCTG + HA side and GT from 1.70 ± 0.75 to 2.59 ± 0.68 on SCTG side). No significant differences with respect to KTW gain and GT gain at 6 months between two treatment modalities were observed.

Table 3 presents details of the esthetic results at 6 months post-operatively. RES outcomes were similar for test and control sides (9.47 ± 1.00 versus 9.04 ± 1.31 respectively, $p = 0.7111$). Likewise, GM, MTC, MGJ, and GC values showed no statistically significant differences between the SCTG + HA group and the SCTG group. However, the test group achieved significantly higher results in the STT value compared to the control group (0.94 ± 0.23 versus 0.69 ± 0.46 , respectively, $p = 0.0219$).

Table 4 presents results of two created logistic regression models. According to the model, the lower teeth had 76% smaller chance of achieving perfect RES and 59% smaller chance of having MRC $> 85\%$ when compared to the upper teeth. The likelihood of perfect RES also increased in statistically significant way for women, molars, premolars, and canines (when compared to incisors), RT1 (when compared to RT2), greater values of GR, CAL, and GT, as well as lower values of KTW. Similarly, the likelihood of MRC $> 85\%$ was higher for canines and molars (when

Table 2 Clinical parameters (mean and standard deviation) at baseline and 6 months after surgery

	Baseline	6 months	<i>p</i>
GR SCTG+HA (mm)	1.77±1.13	0.11±0.41	<0.0001*
GR SCTG	1.67±1.12	0.09±0.38	<0.0001*
<i>p</i>	0.8121	0.9822	
MRC SCTG+HA	-	0.85±0.34	-
MRC SCTG	-	0.83±0.35	-
<i>p</i>		0.9819	
CRC SCTG+HA	-	0.91±0.29	-
CRC SCTG	-	0.93±0.26	-
<i>p</i>		0.9001	
GR red SCTG+HA (mm)	-	1.66±1.06	-
GR red SCTG	-	1.59±1.15	-
<i>p</i>		0.9018	
RW SCTG+HA (mm)	3.24±1.88	0.31±1.11	<0.0001*
RW SCTG	3.32±1.82	0.29±1.11	<0.0001*
<i>p</i>	0.9881	0.9981	
PPD SCTG+HA (mm)	1.42±0.54	1.40±0.54	0.4562
PPD SCTG	1.49±0.57	1.51±0.57	0.5012
<i>p</i>	0.3112	0.1074	
CAL SCTG+HA (mm)	3.08±1.28	0.87±0.80	<0.0001*
CAL SCTG	3.08±1.22	0.90±0.82	<0.0001*
<i>p</i>	0.9801	0.9117	
KTW SCTG+HA (mm)	2.80±1.38	3.54±1.46	0.1981
KTW SCTG	2.69±1.28	3.48±1.32	0.1761
<i>p</i>	0.8911	0.9018	
KTW gain SCTG+HA (mm)	-	0.67±1.33	-
KTW gain SCTG	-	0.65±1.35	-
<i>p</i>		0.9818	
PD SCTG+HA (mm)	1.68±0.72	2.74±0.80	0.0112*
GT SCTG	1.70±0.75	2.59±0.68	0.0219*
<i>p</i>	0.9278	0.8291	
GT gain SCTG+HA (mm)	-	1.00±0.99	-
GT gain SCTG	-	0.80±0.98	-
<i>p</i>		0.8111	

GR gingival recession height, SCTG subepithelial connective tissue graft, HA hyaluronic acid, MRC mean root coverage, CRC complete root coverage, GR red gingival recession reduction, RW gingival recession width, PPD probing pocket depth, CAL clinical attachment level, KTW keratinized tissue width, GT gingival thickness, * statistically significant ($p \leq 0.05$)

compared to incisors), RT1 (when compared to RT2), greater values of GT, as well as lower values of AERSA.

The VAS parameters related to patients' morbidity collected shortly after the surgery are presented in Table 5. There were no statistically significant differences between the control and test groups in either the level of pain and edema self-reported by patients or in their incidence at any of the analyzed intervals (1st, 2nd, 3rd, 4th, 7th, 14th day post-op).

The summary of results regarding esthetic and overall satisfaction with the treatment are presented in Table 6. No statistically significant differences between the two groups were observed. However, regardless of their assignment, most patients seemed to assess the treatment at a high level (mean satisfaction level exceeded 7.98 on the 1–10 scale for all questions). Moreover, all surveyed patients declared that, given the opportunity, they would repeat the surgery, as well as recommend it to others.

Clinical outcomes are presented in Figs. 2 and 3.

Discussion

The values obtained in the study for all clinical parameters were, statistically, significantly better at 6 months after surgery compared to baseline for both analyzed groups. This provides further evidence of the high efficiency of the use of MCAT + SCTG in the treatment of this condition, confirming the findings of previous studies [24, 35, 36].

At the same time, in the current study, no statistically significant differences in clinical (PD, CAL, GT, KT) and esthetic (GM, MTC, MGJ, GC) parameters, were observed between the test group (SCTG+HA) and the control group (SCTG). The only parameter which value was statistically significantly higher in the test group compared to the control group was STT. Thus, based on the results described above, it cannot be concluded that the addition of hyaluronic acid contributes to a significant improvement in GR outcomes when using MCAT + SCTG. However, it can be hypothesized that the use of HA may contribute to minimizing scar tissue formation through its regenerative properties. The results obtained are similar to those described by Kumar et al. [37]. This randomized split-mouth controlled trial comparing treatment outcomes with CAF+HA and

Table 3 Evaluation of esthetic outcomes after 6 months (mean and standard deviation)

	GM	MTC	STT	MGJ	GC	RES
SCTG+HA	5.73±0.87	0.88±0.32	0.94±0.23	0.92±0.28	0.98±0.16	9.47±1.00
SCTG	5.70±1.12	0.83±0.38	0.69±0.46	0.86±0.35	0.95±0.22	9.04±1.31
<i>p</i>	0.9381	0.8991	0.0219*	0.4332	0.9111	0.7111

SCTG subepithelial connective tissue graft, HA hyaluronic acid, GM gingival margin, MTC marginal tissue contour, STT soft tissue texture, MGJ mucogingival junction alignment, GC gingival color, RES root coverage esthetic score, * statistically significant ($p \leq 0.05$)

Table 4 Logistic regression models outcomes

Model	Treatment outcome	Predictor	Category or unit	OR [95% CI]	<i>p</i>
Model I	MRC 85%	HA application	Yes	Reference	
			No	0.96 [0.36–2.45]	0.098943
		Sex	Women	Reference	
			Men	1.40 [0.62–3.21]	0.067777
		Tooth position	Upper	Reference	
			Lower	0.41 [0.21–1.22]	0.007865
		Tooth type	Incisors	Reference	
			Molars	0.66 [0.11–0.92]	0.003425
			Premolars	1.12 [0.33–3.89]	0.988786
			Canines	3.21 [1.78–10.55]	0.013298
		RT	RT1	Reference	
			RT2	0.68 [0.25–0.91]	0.001677
		GR	1 mm	0.89 [0.55–1.21]	0.645672
		RW	1 mm	0.93 [0.61–1.35]	0.883782
		AERSA	1 mm ²	0.43 [0.17–0.84]	0.000078
		PPD	1 mm	1.06 [0.47–4.01]	0.717162
		CAL	1 mm	0.78 [0.12–1.02]	0.085329
		KTW	1 mm	0.80 [0.50–1.30]	0.376758
		GT	1 mm	1.83 [0.84–3.98]	0.028943
Model II	RES	HA application	Yes	Reference	
			No	0.85 [0.28–2.62]	0.789990
		Sex	Women	Reference	
			Men	0.25 [0.05–1.23]	0.004467
		Tooth position	Upper	Reference	
			Lower	0.24 [0.06–1.06]	0.001444
		Tooth type	Incisors	Reference	
			Molars	1.06 [0.31–1.77]	0.002366
			Premolars	1.61 [1.03–3.11]	0.008818
			Canines	3.11 [1.56–4.66]	0.001019
		RT	RT1	Reference	
			RT2	0.81 [0.44–0.92]	0.005543
		GR	1 mm	3.53 [1.12–5.93]	0.003665
		RW	1 mm	1.17 [0.54–2.61]	0.711369
		AERSA	1 mm ²	0.98 [0.75–1.31]	0.776686
		PPD	1 mm	1.14 [0.27–3.20]	0.887787
		CAL	1 mm	3.98 [1.29–5.41]	0.010889
		KTW	1 mm	0.43 [0.23–0.82]	0.009998
		GT	1 mm	2.44 [1.08–5.77]	0.020888

MRC mean root coverage, *HA* hyaluronic acid, *RT* recession type, *GR* gingival recession height, *RW* gingival recession width, *AERSA* avascular exposed root surface area, *PPD* probing pocket depth, *CAL* clinical attachment level, *KTW* keratinized tissue width, *GT* gingival thickness, *RES* root coverage esthetic score

CAF alone showed no statistically significant differences in the parameters (RD, PPD, CAL) between test and control groups. However, authors claim that, regardless of the obtained statistical results, root coverage in the experimental group appeared to be clinically more stable compared with the control group after 24 weeks.

On the other hand, vastly different results were presented in the study by Nandanwar et al. [33]. In a randomized control trial conducted on 24 patients, comparing the efficiency

of HA combined with a polylactic acid/polyglycolic acid (PLA/PGA) membrane, and SCTG alone, in the treatment of multiple gingival recession defects, statistically greater values were obtained for the width of the keratinized gingiva, root coverage, and CAL gain in the experimental group.

Similarly, in a study by Pilloni et al., hyaluronic acid in the treatment of single gingival recessions showed a positive effect on both the clinical outcomes of the treatment and the patient's post-treatment complaints [31]. The test group

Table 5 Subject experience in term of post-operative morbidity

		Test (<i>n</i> = 133)					Control (<i>n</i> = 133)					<i>p</i>
		1st day	2nd day	4th day	7th day	14th day	1st day	2nd day	4th day	7th day	14th day	
		<i>N</i> answering "yes" (%)	<i>N</i> answering "yes" (%)	<i>N</i> answering "yes" (%)	<i>N</i> answering "yes" (%)	<i>N</i> answering "yes" (%)	<i>N</i> answering "yes" (%)	<i>N</i> answering "yes" (%)	<i>N</i> answering "yes" (%)	<i>N</i> answering "yes" (%)	<i>N</i> answering "yes" (%)	
Pain	<i>N</i> answering "yes" (%)	0.88	0.92	0.58	0.54	0.13	0.83	0.92	0.58	0.5	0.13	0.9991
	VAS mean (SD)	3.67 ± 2.82	4.79 ± 2.61	2.56 ± 2.73	1.60 ± 2.12	0.27 ± 0.87	3.60 ± 2.89	4.77 ± 2.56	2.58 ± 2.85	1.50 ± 2.14	0.19 ± 0.51	0.8172
Edema	<i>N</i> answering "yes" (%)	0.96	1	1	0.5	0.29	0.96	1	1	0.5	0.23	0.9997
	VAS (SD)	6.46 ± 2.10	6.94 ± 2.00	4.42 ± 2.35	1.48 ± 2.12	0.44 ± 0.90	6.50 ± 2.10	7.13 ± 1.98	4.42 ± 2.05	1.44 ± 2.01	0.35 ± 0.58	0.9811

n, *N* number, VAS visual analog scale, SD standard deviation, * statistically significant ($p \leq 0.05$)

achieved statistically higher scores in ReCRED, CRC, and MRC. In addition, there were statistically lower values for patient's discomfort and swelling 7 days after surgery. It can be emphasized that the discrepancies in results of the above-mentioned studies may be due to differences in study design, follow-up period, and methodology.

In addition, HA has also found an application in periodontal regenerative surgery. Clinical studies have shown statistical differences in PD reduction and CAL gain in favor of the test group [38], which may also support the validity of the thesis that HA has a positive effect on soft tissue healing.

To the best of our knowledge, the impact of adding HA to the treatment of multiple gingival recessions using MCAT + SCTG on RES score and patient-centered outcomes has not been examined thoroughly in the research published to date. A modern mucogingival plastic surgery should not be focused solely on the improvement of the clinical parameters of the treatment (MRC, CRC), but also on the esthetic outcomes (architecture and color of soft tissues, scar avoidance). Recent studies conducted by Sjørdahl et al. [39] have proven that there are no statistically significant discrepancies between the RES scores assigned by a professional examiner and those self-reported by a patient. A conclusion can be then drawn that esthetic results of the treatment is of equal importance for the patients as are the clinical outcomes.

The present study showed no statistically significant effect of HA use on esthetic parameters, except for one variable (STT). Possibly the latter effect might be due to HA properties that support a vascularization of the operated site, as well as long time of HA degradation, which extends the time span of tissue formation. However, further research will be needed to corroborate the findings of this study.

The authors are fully aware of the limitations of the study. The follow-up period was short (6 months), and the actual differentiation of treatment effects may possibly only be observed over a longer period. However, 6-month outcomes are frequently reported in papers concerning gingival recessions, as there is an increased risk of higher drop-out rate in longer periods [33]. Moreover, it is planned to make another recall at 12 months and observe the group of treated patients for as long as possible. Additionally, both RT1 and RT2 recessions were included in the study, although, the impact of HA use on each type of recession was not investigated due to the limited size of the study group. However, studies have shown that loss of interproximal CAL is not an important predictor for coverage outcomes of multiple gingival recessions [28]. Another limitation was the fact that the sample size calculation was based on the results of a study in which HA was used in combination with a different method than in the current study. However, it was not possible to use the exact same parameters for the application of HA, because, as far

Table 6 Results of patient questionnaire for evaluation of esthetics and overall satisfaction

Question	Test		Control		<i>p</i>
	<i>N</i> answering “yes” (%)	VAS mean (SD)	<i>N</i> answering “yes” (%)	VAS mean (SD)	
Gingival color	0.958333	7.98 ± 1.15	0.958333	8.26 ± 1.25	0.3223
Gingival contour	1	8.21 ± 1.33	1	8.00 ± 1.44	0.7226
Recession coverage	1	8.29 ± 1.08	1	8.21 ± 0.95	0.8810
“How satisfied are you with the results of the surgery?”	1	8.74 ± 0.88	1	8.54 ± 1.05	0.4481
“Would you decide again to go for the treatment performed?”	1	8.69 ± 0.94	1	8.71 ± 1.00	0.9901
“Would you recommend the treatment to another person?”	1	8.70 ± 0.78	1	8.74 ± 0.82	0.9017

n, *N* number, VAS visual analog scale, SD standard deviation, * statistically significant ($p \leq 0.05$)

Fig. 2 **a** Preoperative view of gingival recession located at teeth 16–11 on test side. **b** Tunnel preparation, application of hyaluronic acid. **c** Subepithelial connective tissue graft (SCTG) placed in the tunnel and fixed with sling sutures, application of hyaluronic acid. **d** Immediate post-operative view. **e** 6-month post-operative view



as we are aware, such a study has not yet been conducted. In order to mitigate the resulting risk, it was decided to enroll more patients in the study than was necessary based on the sample size calculation results.

To conclude, there is a need to confirm the results of the current study with a larger group of subjects and a longer follow-up period.

Conclusions

Considering the limitations of this study related to short follow-up period (6 months), it can be concluded that while MCAT + SCTG is a predictable and highly effective technique in the treatment of multiple GRs, neither clinical outcomes nor patient-reported post-operative morbidity

Fig. 3 **a** Preoperative view of gingival recession located at teeth 21–26 on control side. **b** Tunnel preparation. **c** Subepithelial connective tissue graft (SCTG) placed in the tunnel and fixed with sling sutures. **d** Immediate post-operative view. **e** 6-month post-operative view



and satisfaction are impacted by adding HA to it. The only RES parameter that is significantly improved when using HA is STT. The above-described outcomes should be, however, reexamined in the longer follow-up period.

Author contribution Conceptualization, B.G.; methodology, B.G.; software, I.S., M.S. and K.M.M.; validation, B.G., I.S., M.S., K.M.M.; formal analysis, B.G. and I.S.; investigation, B.G., I.S., M.S., K.M.M.; data curation, I.S., K.M.M., and M.S.; writing—original draft preparation, I.S.; writing—review and editing, I.S., B.G., M.S., K.M.M.; visualization, I.S.; project administration, B.G.

Data availability The datasets generated during and/or analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Declarations

Ethical approval All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards. This study was reviewed and approved by the Bioethics Committee of Medical University of Warsaw, Poland (KB/119/2021).

Competing interests The authors declare no competing interests.

References

- Wennström JL (1996) Mucogingival therapy. *Ann Periodontol* 1(1):671–701. <https://doi.org/10.1902/annals.1996.1.1.671>
- Fukumoto Y, Horibe M, Inagaki Y, Oishi K, Tamaki N, Ito HO, Nagata T (2014) Association of gingival recession and other factors with the presence of dentin hypersensitivity. *Odontology* 102(1):42–49. <https://doi.org/10.1007/s10266-012-0099-5>
- Serino G, Wennström JL, Lindhe J, Eneroth L (1994) The prevalence and distribution of gingival recession in subjects with a high standard of oral hygiene. *J Clin Periodontol* 21(1):57–63. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1994.tb00278.x>
- American Academy of Periodontology (1992) Glossary of Periodontal Terms, 3rd edn. American Academy of Periodontology, Chicago
- Zucchelli G, Mounssif I (2015) Periodontal plastic surgery. *Periodontol* 2000 68(1):333–68. <https://doi.org/10.1111/prd.12059>
- Rios FS, Costa RS, Moura MS, Jardim JJ, Maltz M, Haas AN (2014) Estimates and multivariable risk assessment of gingival recession in the population of adults from Porto Alegre. *Brazil J Clin Periodontol* 41(11):1098–1107. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12303>
- Seong J, Bartlett D, Newcombe RG, Claydon NCA, Hellin N, West NX (2018) Prevalence of gingival recession and study of associated related factors in young UK adults. *J Dent* 76:58–67. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2018.06.005>
- Romano F, Perotto S, Baima G, Macri G, Piccolo F, Romandini M, Mariani GM, Aimetti M (2022) Estimates and multivariable risk

- assessment of mid-buccal gingival recessions in an Italian adult population according to the 2018 World Workshop Classification System. *Clin Oral Investig* 26(7):4769–4780. <https://doi.org/10.1007/s00784-022-04441-w>
9. Romandini M, Soldini MC, Montero E, Sanz M (2020) Epidemiology of mid-buccal gingival recessions in NHANES according to the 2018 World Workshop Classification System. *J Clin Periodontol* 47(10):1180–1190. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13353>
 10. Cairo F, Nieri M, Cincinelli S, Mervelt J, Pagliaro U (2011) The interproximal clinical attachment level to classify gingival recessions and predict root coverage outcomes: an explorative and reliability study. *J Clin Periodontol* 38(7):661–666. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01732.x>
 11. de Sanctis M, Zucchelli G (2007) Coronally advanced flap: a modified surgical approach for isolated recession-type defects: three-year results. *J Clin Periodontol* 34(3):262–268. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2006.01039.x>
 12. Cairo F, Cortellini P, Pilloni A, Nieri M, Cincinelli S, Amunni F, Pagavino G, Tonetti MS (2016) Clinical efficacy of coronally advanced flap with or without connective tissue graft for the treatment of multiple adjacent gingival recessions in the aesthetic area: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 43(10):849–856. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12590>
 13. Aroca S, Di Domenico GL, Darnaud C, de Sanctis M (2021) Modified coronally advanced tunnel technique with site-specific application of connective tissue graft for the treatment of multiple adjacent maxillary gingival recessions: a case series. *Int J Periodontics Restor Dent* 41(2):253–259. <https://doi.org/10.11607/prd.4836>
 14. Sculean A, Allen EP, Katsaros C, Stähli A, Miron RJ, Deppe H, Cosgarea R (2021) The combined laterally closed, coronally advanced tunnel for the treatment of mandibular multiple adjacent gingival recessions: surgical technique and a report of 11 cases. *Quintessence Int* 52(7):576–582. <https://doi.org/10.3290/j.qi.b1098307>
 15. Sculean A, Allen EP (2018) The laterally closed tunnel for the treatment of deep isolated mandibular recessions: surgical technique and a report of 24 cases. *Int J Periodontics Restor Dent* 38(4):479–487. <https://doi.org/10.11607/prd.3680>
 16. Zabalegui I, Sicilia A, Cambra J, Gil J, Sanz M (1999) Treatment of multiple adjacent gingival recessions with the tunnel subepithelial connective tissue graft: a clinical report. *Int J Periodontics Restor Dent* 19(2):199–206
 17. Santamaria MP, Neves FLDS, Silveira CA, Mathias IF, Fernandes-Dias SB, Jardim MAN, Tatakis DN (2017) Connective tissue graft and tunnel or trapezoidal flap for the treatment of single maxillary gingival recessions: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* 44(5):540–547. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12714>
 18. Sculean A, Cosgarea R, Stähli A, Katsaros C, Arweiler NB, Miron RJ, Deppe H (2016) Treatment of multiple adjacent maxillary Miller Class I, II, and III gingival recessions with the modified coronally advanced tunnel, enamel matrix derivative, and subepithelial connective tissue graft: a report of 12 cases. *Quintessence Int* 47(8):653–659. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a36562>
 19. Aroca S, Molnár B, Windisch P, Gera I, Salvi GE, Nikolidakis D, Sculean A (2013) Treatment of multiple adjacent Miller class I and II gingival recessions with a modified coronally advanced tunnel (MCAT) technique and a collagen matrix or palatal connective tissue graft: a randomized, controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 40(7):713–720. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12112>
 20. Korkmaz B, Balli U (2021) Clinical evaluation of the treatment of multiple gingival recessions with connective tissue graft or concentrated growth factor using tunnel technique: a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Investig* 25(11):6347–6356. <https://doi.org/10.1007/s00784-021-03935-3>
 21. Górski B, Górski R, Wysokińska-Miszczuk J, Kaczyński T (2020) Tunnel technique with enamel matrix derivative in addition to subepithelial connective tissue graft compared with connective tissue graft alone for the treatment of multiple gingival recessions: a randomized clinical trial. *Clin Oral Investig* 24(12):4475–4486. <https://doi.org/10.1007/s00784-020-03312-6>
 22. Górski B, Szerszeń M, Kaczyński T (2022) Effect of 24% EDTA root conditioning on the outcome of modified coronally advanced tunnel technique with subepithelial connective tissue graft for the treatment of multiple gingival recessions: a randomized clinical trial. *Clin Oral Investig* 26(2):1761–1772. <https://doi.org/10.1007/s00784-021-04151-9>
 23. Zühr O, Fickl S, Wachtel H, Bolz W, Hürzeler MB (2007) Covering of gingival recessions with a modified microsurgical tunnel technique: case report. *Int J Periodontics Restor Dent* 27(5):457–463
 24. Tavelli L, Barootchi S, Nguyen TVN, Tattan M, Ravidà A, Wang HL (2018) Efficacy of tunnel technique in the treatment of localized and multiple gingival recessions: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol* 89(9):1075–1090. <https://doi.org/10.1002/JPER.18-0066>
 25. Lanzrein C, Guldener K, Imber JC, Katsaros C, Stähli A, Sculean A (2020) Treatment of multiple adjacent recessions with the modified coronally advanced tunnel or laterally closed tunnel in conjunction with cross-linked hyaluronic acid and subepithelial connective tissue graft: a report of 15 cases. *Quintessence Int* 51(9):710–719. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a44808>
 26. Guldener K, Lanzrein C, Eliezer M, Katsaros C, Stähli A, Sculean A (2020) Treatment of single mandibular recessions with the modified coronally advanced tunnel or laterally closed tunnel, hyaluronic acid, and subepithelial connective tissue graft: a report of 12 cases. *Quintessence Int* 51(6):456–463. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a44492>
 27. Rahemtulla F (1992) Proteoglycans of oral tissues. *Crit Rev Oral Biol Med* 3(1–2):135–162. <https://doi.org/10.1177/10454411920030010301>
 28. Dahiya P, Kamal R (2013) Hyaluronic acid: a boon in periodontal therapy. *N Am J Med Sci* 5(5):309–315. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.112473>
 29. Moseley R, Waddington RJ, Embery G (2002) Hyaluronan and its potential role in periodontal healing. *Dent Updat* 29(3):144–8. <https://doi.org/10.12968/denu.2002.29.3.144>
 30. Pirnazar P, Wolinsky L, Nachnani S, Haake S, Pilloni A, Bernard GW (1999) Bacteriostatic effects of hyaluronic acid. *J Periodontol* 70(4):370–374. <https://doi.org/10.1902/jop.1999.70.4.370>
 31. Pilloni A, Schmidlin PR, Sahrman P, Sculean A, Rojas MA (2019) Effectiveness of adjunctive hyaluronic acid application in coronally advanced flap in Miller class I single gingival recession sites: a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Investig* 23(3):1133–1141. <https://doi.org/10.1007/s00784-018-2537-4>
 32. Yıldırım S, Özener HÖ, Doğan B, Kuru B (2018) Effect of topically applied hyaluronic acid on pain and palatal epithelial wound healing: an examiner-masked, randomized, controlled clinical trial. *J Periodontol* 89(1):36–45. <https://doi.org/10.1902/jop.2017.170105>
 33. Nandanwar J, Bhongade ML, Puri S, Dhade P, Datir M, Kasatwar A (2018) Comparison of effectiveness of hyaluronic acid in combination with polylactic acid/polyglycolic acid membrane and subepithelial connective tissue graft for the treatment of multiple gingival recession defects in human: a clinical study. *J Datta Meghe Inst Med Sci Univ* 13:48–53
 34. Cairo F, Nieri M, Cattabriga M, Cortellini P, De Paoli S, De Sanctis M, Fonzar A, Francetti L, Merli M, Rasperi G, Silvestri M, Trombelli L, Zucchelli G, Pini-Prato GP (2010) Root coverage esthetic score after treatment of gingival recession: an interrater

- agreement multicenter study. *J Periodontol* 81(12):1752–1758. <https://doi.org/10.1902/jop.2010.100278>
35. Aroca S, Keglévich T, Nikolidakis D, Gera I, Nagy K, Azzi R, Etienne D (2010) Treatment of class III multiple gingival recessions: a randomized-clinical trial. *J Clin Periodontol* 37(1):88–97. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01492.x>
 36. Lakshmi MR, Gottumukkala SNVS, Penmetsa GS et al (2022) Clinical outcomes of root coverage using porcine-derived collagen matrix with modified coronally advanced tunnel technique (MCAT) in multiple gingival recessions in smokers — a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Investig* 4. <https://doi.org/10.1007/s00784-022-04700-w>.
 37. Kumar R, Srinivas M, Pai J, Suragimath G, Prasad K, Polepalle T (2014) Efficacy of hyaluronic acid (hyaluronan) in root coverage procedures as an adjunct to coronally advanced flap in Millers Class I recession: a clinical study. *J Indian Soc Periodontol* 18(6):746–750. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.147411>
 38. Pilloni A, Rojas MA, Marini L, Russo P, Shirakata Y, Sculean A, Iacono R (2021) Healing of intrabony defects following regenerative surgery by means of single-flap approach in conjunction with either hyaluronic acid or an enamel matrix derivative: a 24-month randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Investig* 25(8):5095–5107. <https://doi.org/10.1007/s00784-021-03822-x>
 39. Sjørdahl AJ, Verket A (2022) Patient and professional use of the root coverage esthetic score (RES) and how it relates to patient satisfaction following periodontal plastic surgery. *BMC Oral Health* 22(1):295. <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02326-8>

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

Received: 7 February 2024 | Revised: 26 April 2024 | Accepted: 2 May 2024
DOI: 10.1002/JPER.24-0093



ORIGINAL ARTICLE

Tunnel technique and subepithelial connective tissue graft, with or without cross-linked hyaluronic acid, in the treatment of multiple gingival recessions: 12-month outcomes of a randomized clinical trial

Izabela Skierska¹ | Bartłomiej Górski¹ | Łukasz Fus²

¹Department of Periodontology and Oral Mucosa Diseases, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

²Department of Pathology, Medical University of Warsaw, Warsaw, Poland

Correspondence

Izabela Skierska, Department of Periodontology and Oral Mucosa Diseases, Medical University of Warsaw, 02097 Warsaw, Poland.
Email: iza.maria.skierska@gmail.com

Abstract

Background: This study evaluated the influence of the adjunctive application of a cross-linked hyaluronic acid (HA) in the treatment of multiple gingival recessions, using a modified coronally advanced tunnel (MCAT) technique and subepithelial connective tissue graft (SCTG) (MCAT+SCTG±HA).

Methods: A randomized, split-mouth, double-masked comparison of the effects of MCAT+HA+SCTG (test) versus MCAT+SCTG (control) in the treatment of multiple, contralateral gingival recessions with clinical, esthetic, and histological evaluations was carried out. All samples were stained with hematoxylin and eosin, Masson's trichrome, Verhoeff–Van Gieson, and Alcian blue stain for semi-quantitative evaluation. The primary outcome variable was 12-month mean root coverage (MRC).

Results: Twenty-four patients with 266 gingival recessions received both control and test treatments (133 recessions per group). 12-month MRC of the MCAT+HA+SCTG group was not significantly different from the MCAT+SCTG group with $84.32\% \pm 34.46\%$ and $85.71\% \pm 36.43\%$, respectively ($p = 0.991$). Both treatment modes produced favorable esthetic outcomes (root coverage esthetic score [RES] 9.51 ± 1.01 tests vs. 9.26 ± 1.10 controls, $p = 0.7292$). However, the application of HA improved soft tissue texture ($p = 0.0091$). The remaining end point measures did not differ significantly between groups. Histological evaluation showed a significantly greater number of elastic fibers and a moderate increase in collagen fiber density in biopsy samples taken from the test sides when compared to the control sides ($p = 0.0419$ and $p = 0.300$, respectively).

Conclusions: MCAT+SCTG is an effective procedure in the treatment of multiple recession Type 1 (RT1) and RT2 recessions. There were no statistically significant differences in evaluated clinical treatment outcomes in the MCAT+HA+SCTG group compared to the MCAT+SCTG group within a period of 12 months. The application of HA increased collagen and elastic fiber density.



KEYWORDS

histology, hyaluronic acid, modified coronally advanced tunnel technique, multiple gingival recessions, subepithelial connective tissue graft

1 | INTRODUCTION

A gingival recession (GR) is defined as the exposure of root surface following the apical migration of the gingival margin (GM) relative to the cemento-enamel junction (CEJ).¹ GR affect members of all age groups, with a prevalence of up to 70% in individuals aged 50 years and above.² GR may be associated with impaired esthetic appearance, caries, noncarious cervical lesions, and teeth hypersensitivity.³

A modified coronally advanced tunnel (MCAT) technique combined with subepithelial connective tissue graft (SCTG) has been suggested as a safe, predictable, and highly effective surgical approach for single and multiple GR treatment.^{4–8} A recent systematic review indicated that MCAT was associated with a mean root coverage (MRC) of $82.75\% \pm 19.7\%$ in the case of localized GR and $87.8\% \pm 16.45\%$ for multiple GR.⁹

The application of various biomaterials to enhance soft tissue healing in the treatment of GR, such as acellular dermal matrix, porcine-derived collagen matrix, enamel matrix derivative (EMD), platelet-rich fibrin membrane, and hyaluronic acid (HA), has been proposed and tested.^{10–14} Increasing attention has recently been given to HA, which is a linear glycosaminoglycan composed of disaccharides containing glucuronic acid and N-acetylglucosamine.¹⁵ HA constitutes a major component of the extracellular matrix.¹⁶ HA binds water and facilitates the transfer of various metabolites, stimulates cell migration and differentiation, regulates tissue homeostasis and inflammation, and exerts oxygen radical scavenger effects.^{15, 17, 18} A plethora of in vitro and animal studies has shown that HA improves clot formation, induces angiogenesis, enhances collagen and elastic fiber regeneration, and increases the tensile strength of the granulation tissue, all of which may potentially reduce healing time and improve wound stability.^{19–25}

A recent systematic review regarding the additional benefits of HA in the surgical treatment of GR registered advantageous effects on the clinical outcomes in the short term.²⁶ Performing a meta-analysis, however, was not feasible due to significant heterogeneity in surgical modalities. In this context, clinical evidence on the effect of the employment of HA in the treatment of GR remains missing. Therefore, the authors conducted a randomized clinical trial (RCT) to compare clinical, esthetic, and histological outcomes of the multiple GR treatment,

using MCAT+HA+SCTG (tests) versus MCAT+SCTG (controls). The primary outcome variable was MRC at 12 months postoperatively. The null hypothesis was that MRC at 12 months for HA+SCTG sides would be no better than for SCTG sides.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 | Study design and ethical considerations

The study was designed as a randomized, split-mouth, double-masked (patients and examiners), monocenter clinical trial assessing the effectiveness of the adjunctive application of HA combined with SCTG (test) compared with SCTG alone (control) in the treatment of multiple GR. All patients were treated at the Department of Periodontology and Oral Mucosa Diseases of the Medical University of Warsaw. The target population consisted of patients over the age of 18 with multiple, contralateral GR occurring in either the maxilla or the mandible. Details of inclusion and exclusion criteria are presented in the supplementary files (see Table S1 in online *Journal of Periodontology*).²⁷

The study protocol was registered at ClinicalTrials.gov (ID no. NCT05045586). The registration was done a priori. The protocol and patient informed consent forms were approved by the institutional bioethics committee (approval no. KB/119/2021). All patients signed informed consent forms prior to treatment. This trial was carried out following all local legal requirements and the Helsinki Declaration of 1975, as revised in Tokyo in 2013.

2.2 | Sample size calculation

The power analysis was based on a study by Nandanwar et al. according to which the application of HA increased MRC by approximately 8.92% when compared to the control.²⁸ Consequently, a clinically significant difference of 8.92% or more in MRC between groups over 12 months would be of interest. Assuming an SD of $\pm 7.39\%$, a level of significance of 0.05, and a power of 80%, a sample size of 12 patients would be required. However, the final sample size was decided to be 24 patients, considering the availability of cases.



2.3 | Study outcomes

The primary efficacy end point was MRC at 12 months compared to baseline. Secondary efficacy end points included GR reduction (GR_{red}), gain in clinical attachment level (CAL), increase in keratinized tissue width (KTW), gain in gingival thickness (GT), and root coverage esthetic score (RES).

2.4 | Clinical measurements

The clinical measurements were performed by a single masked calibrated examiner (I.S.) at baseline, 6 months, and 12 months after surgery. The calibration exercise consisted of two sets of repeated measurements, performed 24 h apart, in eight patients with at least four contralateral GR, who did not participate in the present study. A designated investigator evaluated gingival recession height (GRH), recession width (RW), probing pocket depth (PPD), CAL, KTW, and GT and rounded down to the nearest half millimeter. The intraexaminer intraclass correlation coefficient was 0.921 (95% CI: 0.894–0.939) for GR, 0.889 (0.830–0.914) for RW, 0.902 (0.863–0.928) for PPD, 0.893 (0.845–0.922) for CAL, and 0.898 (0.850–0.927) for KTW.

The following clinical measurements were recorded:

1. Gingival recession height (GRH): distance between CEJ and GM at the midbuccal side,
2. Recession width (RW): horizontal distance between the mesial and distal margins of the recession at CEJ level,
3. Probing pocket depth (PPD): distance between GM and the bottom of the gingival sulcus,
4. Clinical attachment level (CAL): distance between CEJ and the bottom of the gingival sulcus,
5. Keratinized tissue width (KTW): distance between GM and the mucogingival junction;
6. Gingival thickness (GT): measured at the buccal side of the tooth 3 mm apical to the GM.

A periodontal probe (PCP UNC 15; Hu-Friedy, Chicago, Illinois, USA) was used for measuring GR, RW, PPD, CAL, and KTW, while GT was measured at the buccal side of the tooth 3 mm apical to the GM using an endodontic file 25 ISO (Poldent, Warsaw, Poland) with a stopper positioned perpendicularly to the gingiva until the root surface or the alveolar bone was reached. After removal of the file, the distance between the tip of the file and the stopper was measured with an electronic caliper with an accuracy of 0.01 (YATO YT-7201; Toya, Wrocław, Poland).

2.5 | Randomization and allocation concealment

Randomization was performed before the surgery by an uninvolved statistician who used a computer-generated randomization list. Each subject contributed paired defects to the study. The allocation concealment was carried out in sealed and opaque envelopes. The envelope was opened immediately prior to the surgery and the operator was informed about the treatment modality for the right side of the mouth, which was always treated first. Subsequently, the left side of the mouth was treated with the opposite treatment modality. Patients were blinded to group allocation.

2.6 | Surgical treatment

One experienced surgeon (B.G.) was responsible for the performance of all surgeries using the MCAT technique.¹² Both sides were treated during a single appointment. Flap preparation and graft harvesting were identical for both test and control sides. Details of the surgical procedure and postoperative instructions have been described in a previous paper.²⁹ For the test side, 1.6% cross-linked HA and 0.2% linear HA (Hyadent BG, Bioscience, Germany) was applied directly on the roots of the treated teeth and under the surgical flap to ensure permanence in the wound, similarly to other studies.^{30–32} All manufacturer recommendations were respected during the procedure. SCTG was stabilized at CEJ level with resorbable sling sutures. Special attention was given to the avoidance of flap tension, achievement of complete graft coverage under the flap, and the optimal postoperative coronal positioning of the flap. Recessions assigned to the control group underwent a near-identical procedure, differentiated only by the absence of HA. Patients were scheduled for recall appointments at 1, 3, 6, and 12 months.

2.7 | Evaluation of esthetics and patient satisfaction

Esthetic evaluation was performed based on photographic images taken before and 6 and 12 months after surgery, in accordance with RES³³ by a single, blinded examiner (M.S.). For details of the evaluated RES parameters, see Table S2 in the online *Journal of Periodontology*. Clinical outcomes are presented in Figure 1. Patient-reported outcome (PRO) measures for esthetics and overall treatment satisfaction were evaluated using questionnaires distributed 6 months and 12 months post surgery. Questions were designed in a dichotomous fashion (yes or no), and

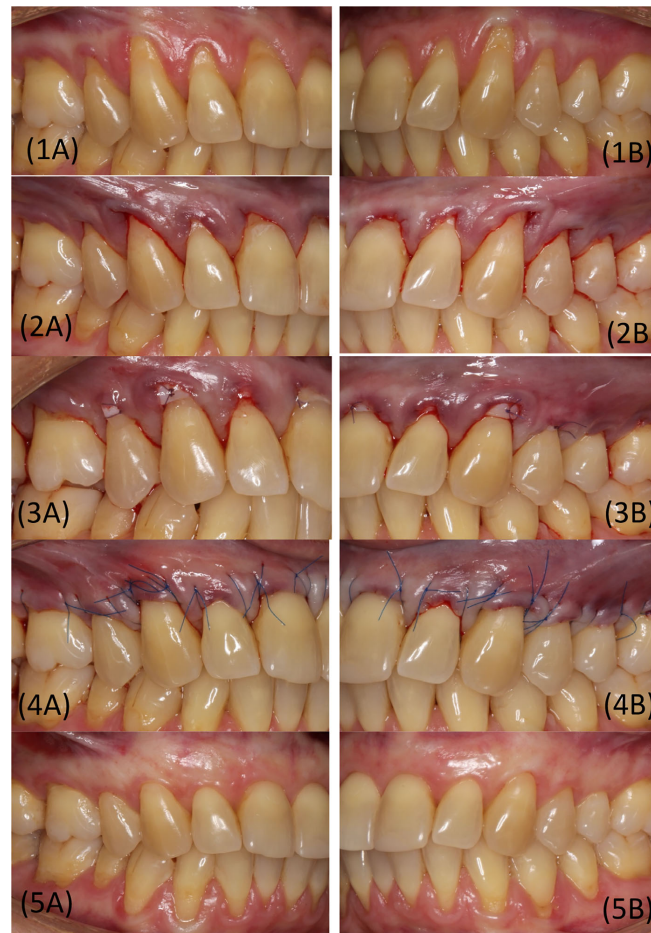


FIGURE 1 (1A) Preoperative view of gingival recession located at Teeth 16–11 on test side. (1B) Preoperative view of gingival recession located at Teeth 21–26 on control side. (2A) Tunnel preparation, application of hyaluronic acid. (2B) Tunnel preparation. (3A) Subepithelial connective tissue graft (SCTG) placed in tunnel and fixed with sling sutures, application of hyaluronic acid. (3B) SCTG placed in tunnel and fixed with sling sutures. (4A) Immediate postoperative view on test side. (4B) Immediate postoperative view on control side. (5A) 12-month postoperative view on test side. (5B) 12-month postoperative view on control side.

a visual analog scale (VAS) was used to evaluate esthetic satisfaction.

2.8 | Harvesting and preparation of biopsies

Gingival biopsies were taken around the premolar teeth bilaterally from both test and control sides at 12 months.

Biopsies were harvested from 17 patients who had given written informed consent for such an examination. A 3-mm punch biopsy pen (Integra Miltex Disposable Biopsy Punch 3 mm; Integra LifeSciences Services, Saint-Priest, France) under local anesthesia with 4% articaine hydrochloride with adrenaline (1:100000) (Septanest; Septodont, Saint-Maur-des-Fossés, France) was used to obtain the samples. The punch was positioned 2 mm from the GM, perpendicular to the gingival surface.



Semirotational movements were then made to take epithelial and subepithelial tissue samples without disturbing the periosteum. All specimens were preserved in a 10% buffered formalin solution and transferred to the Department of Pathology of the Medical University of Warsaw. There, the specimens were dried and then immersed in paraffin blocks under the supervision of one blinded examiner (L.F.). Samples from the blocks were cut into 3- μ m-thick sections and stained with hematoxylin and eosin (H&E) for morphological examination. All sections were also stained with Masson's trichrome (MT), Verhoeff–Van Gieson, and Alcian blue (AB) stain for evaluation of the collagen framework, elastic fibers, and extracellular matrix mucopolysaccharides, respectively. Histochemical stains were performed in an automated stainer (Dako Omnis; Agilent Technologies, Inc., California, USA) in accordance with each manufacturer's recommendations.

2.9 | Histological analysis

From each sample, one histological section was randomly chosen and examined by an experienced pathologist blinded to the clinical outcome of patients and to the site of biopsy (L.F.). The slides were digitized with a Hamamatsu NanoZoomer 2.0-HT scanner (Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Japan) and evaluated at 4 $\times$ and 20 $\times$ magnification using NDP.view2 software (Hamamatsu Photonics, Hamamatsu, Japan).

The slides were first assessed at low magnification (4 $\times$ scanning magnification) to evaluate the general architecture and distribution of collagen and elastic fibers as well as extracellular matrix mucopolysaccharides. Next, the slides were viewed at 20 $\times$ magnification and assessed semiquantitatively in a two-class scoring system as + (low density of collagen framework, absence or low number of elastin fibers, small amount of matrix mucopolysaccharides) and ++ (medium to high density of collagen framework, moderate to high number of elastin fibers, moderate to high amount of matrix mucopolysaccharides). The histologic examination was performed by an experienced pathologist blinded to the clinical outcome of patients and to the site of biopsy (L.F.).

2.10 | Statistical analysis

The analyzed metrics were calculated as follows: (1) $MRC = GR_0 - GR_6 / GR_0 \times 100\%$ (after 6 months), $MRC = GR_0 - GR_{12} / GR_0 \times 100\%$ (after 12 months); (2) $GR_{red} = GR_0 - GR_6$ (after 6 months), $GR_{red} = GR_0 - GR_{12}$ (after 12 months); (3) $CAL\ gain = CAL_0 - CAL_6$ (after 6 months), $CAL\ gain = CAL_0 - CAL_{12}$ (after 12

months); (4) $KTW\ gain = KTW_6 - KTW_0$ (after 6 months), $KTW\ gain = KTW_{12} - KTW_0$ (after 12 months); and (5) $GT\ gain = GT_6 - GT_0$ (after 6 months), $GT\ gain = GT_{12} - GT_0$ (after 12 months). The normality of the distribution of quantitative variables was verified with the Shapiro–Wilk test. The primary outcome variable (MRC) was tested for superiority by Student's *t* test. The secondary outcomes were tested for side differences by Student's *t* test. If significant, the outcomes were verified by repeated measures of variance, with the subject as random effect used in the analysis of variance (ANOVA) approach. Pearson's chi-square test was used for comparison of fractions and the agreement of variable class distribution between tests and controls. Statistical significance was defined as *p* value <0.05.

3 | RESULTS

A total of 24 patients (19 females and 5 males aged between 19 and 50, mean age 32.54 ± 6.67 years) with multiple symmetrical recession defects were enrolled in the study between April 2021 and May 2022. All 24 patients were evaluated after 1 year. A total of 266 GR (210 recessions in the maxilla and 56 in the mandible) were treated during the study. Healing was uneventful with none of the patients developing any major complications or allergic reactions (see Table S3 in online *Journal of Periodontology*).

The estimations concerning metrics used to assess clinical outcomes at baseline and 6 and 12 months after surgery can be found in Table 1. Twelve-month MRC was 84.32% for HA+SCTG sides and 85.71% for SCTG sides (*p* = 0.9910); thus the null hypothesis was not rejected. The mean difference for the primary outcome variable of MRC was not significant and did not meet the superiority threshold of 8.92%. Consequently, the repeated measures of variance were not performed. With respect to the remaining clinical secondary end points, namely GR_{red} , CAL gain, GT gain, and KTW gain, both treatment modalities resulted in significant improvements at 6 and 12 months postoperatively. No statistically significant differences were observed in all clinical parameters between the treatment groups 6 and 12 months postoperatively. The 12-month results were not statistically different from those taken after 6 months.

Both study groups achieved favorable esthetic outcomes. Twelve-month RES values did not display statistically significant differences between MCAT+HA+SCTG and MCAT+SCTG (9.51 ± 1.01 vs. 9.26 ± 1.10 respectively, *p* = 0.7292) (Table 2). However, when comparing the soft tissue texture (STT) variable between the two treatment modalities, the additional application of HA resulted in the achievement of a significantly higher value for this variable (0.96 ± 0.20 for MCAT+HA+SCTG vs. 0.73 ± 0.22 for



TABLE 1 Clinical parameters (mean ± SD) at baseline and 6 and 12 months after surgery.

	Test group (MCAT+HA+SCTG)	Control group (MCAT+SCTG)	p value
MRC			
Baseline (t ₁)			
6 months (t ₂)	85.23 ± 34.21	83.37 ± 35.54	0.9019
12 months (t ₃)	84.32 ± 34.46	85.71 ± 36.43	0.9910
p value t ₁ vs. t ₂			
p value t ₂ vs. t ₃	0.9011	0.9342	
p value t ₁ vs. t ₃			
CRC			
Baseline (t ₁)			
6 months (t ₂)	91.32 ± 29.11	93.39 ± 26.34	0.9001
12 months (t ₃)	92.12 ± 28.14	94.61 ± 24.71	0.8994
p value t ₁ vs. t ₂			
p value t ₂ vs. t ₃	0.9981	0.9874	
p value t ₁ vs. t ₃			
GRH			
Baseline (t ₁)	1.77 ± 1.13	1.67 ± 1.12	0.8121
6 months (t ₂)	0.11 ± 0.41	0.09 ± 0.38	0.9822
12 months (t ₃)	0.12 ± 0.48	0.08 ± 0.39	0.9983
p value t ₁ vs. t ₂	<0.0001	<0.0001	
p value t ₂ vs. t ₃	0.8741	0.8991	
p value t ₁ vs. t ₃	<0.0001	<0.0001	
GR_{red}			
Baseline (t ₁)			
6 months (t ₂)	1.66 ± 1.06	1.59 ± 1.15	0.9018
12 months (t ₃)	1.65 ± 1.09	1.59 ± 1.14	0.9205
p value t ₁ vs. t ₂			
p value t ₂ vs. t ₃	0.9231	0.9938	
p value t ₁ vs. t ₃			
RW			
Baseline (t ₁)	3.24 ± 1.88	3.32 ± 1.82	0.9881
6 months (t ₂)	0.31 ± 1.11	0.29 ± 1.11	0.9981
12 months (t ₃)	0.35 ± 1.29	0.25 ± 1.09	0.2332
p value t ₁ vs. t ₂	<0.0001	<0.0001	
p value t ₂ vs. t ₃	0.4592	0.5021	
p value t ₁ vs. t ₃	<0.0001	<0.0001	
PPD			
Baseline (t ₁)	1.42 ± 0.54	1.49 ± 0.57	0.3112
6 months (t ₂)	1.40 ± 0.54	1.51 ± 0.57	0.1074
12 months (t ₃)	1.42 ± 0.53	1.40 ± 0.54	0.7811
p value t ₁ vs. t ₂	0.4562	0.5012	
p value t ₂ vs. t ₃	0.4587	0.1075	
p value t ₁ vs. t ₃	0.9982	0.4837	
CAL			
Baseline (t ₁)	3.08 ± 1.28	3.08 ± 1.22	0.9801
6 months (t ₂)	0.87 ± 0.80	0.90 ± 0.82	0.9117

(Continues)



TABLE 1 (Continued)

	Test group (MCAT+HA+SCTG)	Control group (MCAT+SCTG)	p value
12 months (t3)	0.50 ± 0.85	0.57 ± 0.80	0.8993
p value t ₁ vs. t ₂	<0.0001	<0.0001	
p value t ₂ vs. t ₃	0.1668	0.1195	
p value t ₁ vs. t ₃	<0.0001	<0.0001	
KTW			
Baseline (t ₁)	2.80 ± 1.38	2.69 ± 1.28	0.8911
6 months (t2)	3.54 ± 1.46	3.48 ± 1.32	0.9018
12 months (t3)	3.57 ± 1.49	3.57 ± 1.26	0.8938
p value t ₁ vs. t ₂	0.1981	0.1761	
p value t ₂ vs. t ₃	0.9244	0.9921	
p value t ₁ vs. t ₃	0.2092	0.2100	
KTW gain			
Baseline (t ₁)			
6 months (t2)	0.67 ± 1.33	0.65 ± 1.35	0.9818
12 months (t3)	0.68 ± 1.40	0.76 ± 1.36	0.5882
p value t ₁ vs. t ₂			
p value t ₂ vs. t ₃	0.9822	0.7639	
p value t ₁ vs. t ₃			
GT			
Baseline (t ₁)	1.68 ± 0.72	1.70 ± 0.75	0.9278
6 months (t2)	2.74 ± 0.80	2.59 ± 0.68	0.8291
12 months (t3)	2.54 ± 0.74	2.54 ± 0.67	0.9992
p value t ₁ vs. t ₂	0.0112*	0.0219*	
p value t ₂ vs. t ₃	0.4511	0.	
p value t ₁ vs. t ₃	0.0351*	0.3880*	
GT gain			
Baseline (t ₁)			
6 months (t2)	1.00 ± 0.99	0.80 ± 0.98	0.8111
12 months (t3)	0.81 ± 0.79	0.77 ± 0.74	0.7862
p value t ₁ vs. t ₂			
p value t ₂ vs. t ₃	0.4522	0.8992	
p value t ₁ vs. t ₃			

Abbreviations: CAL, clinical attachment level; CRC, complete root coverage; GRH, gingival recession height; GR_{red}, gingival recession reduction; GT, gingival thickness; HA, hyaluronic acid; KTW, keratinized tissue width; MCAT, modified coronally advanced tunnel; MRC, mean root coverage; PPD, probing pocket depth; RW, recession width; SCTG, subepithelial connective tissue graft.

*Statistically significant ($p \leq 0.05$).

MCAT+SCTG, $p = 0.0091$) (see Figure S1 in online *Journal of Periodontology*). STT was verified by repeated measures of variance with the subject as random effect. Consequently, repeated measures of variance between treatment groups were not observed ($p = 0.3426$).

No significant difference was noted between both groups with respect to gingival/contour and GR coverage, as measured by VAS values. PRO results were not significantly different between the two therapies. When comparing treatment modalities, the results of VAS assessments for

overall patient satisfaction were generally very positive. Moreover, all surveyed patients declared that, given the opportunity, they would repeat the surgery and recommend it to others (see Table S4 in online *Journal of Periodontology*).

In total, 34 biopsies from 17 patients were evaluated microscopically.

In the sections stained with MT in both groups, the overall number of collagen fibers was higher than in normal mucosal connective tissue, which was expected



TABLE 2 Evaluation of esthetic outcomes after 6 and 12 months (mean + SD).

	GM	MTC	STT	MGJ	GC	RES
SCTG+HA (test) t2 6 months	5.73 ± 0.87	0.88 ± 0.32	0.94 ± 0.23	0.92 ± 0.28	0.98 ± 0.16	9.47 ± 1.00
SCTG (control) t2 6 months	5.70 ± 1.12	0.83 ± 0.38	0.69 ± 0.46	0.86 ± 0.35	0.95 ± 0.22	9.04 ± 1.31
SCTG+HA (test) t3 12 months	5.75 ± 0.83	0.90 ± 0.30	0.96 ± 0.20	0.92 ± 0.28	0.98 ± 0.14	9.51 ± 1.01
SCTG (control) t3 12 months	5.78 ± 0.87	0.87 ± 0.34	0.73 ± 0.22	0.89 ± 0.31	0.98 ± 0.13	9.26 ± 1.10
<i>p</i> value test vs. control after 6 months	0.9381	0.8991	0.0219*	0.4332	0.9111	0.7111
<i>p</i> value <i>t</i> ₂ vs. <i>t</i> ₃	0.9377	0.8738	0.0029*	0.5637	0.9183	0.8192
<i>p</i> value test vs. control after 12 months	0.9491	0.9271	0.0091*	0.7703	0.9981	0.7292

Abbreviations: GC, gingival color; GM, gingival margin; HA, hyaluronic acid; MGJ, mucogingival junction alignment; MTC, marginal tissue contour; RES, root coverage esthetic score; SCTG, subepithelial connective tissue graft; STT, soft tissue texture.

*Statistically significant ($p \leq 0.05$).

TABLE 3 Comparison of histochemical stain results (mean + SD).

	Test group (MCAT+SCTG+HA)	Control group (MCAT+SCTG)	<i>p</i> value
Masson's trichrome, <i>n</i> (%)			0.3000
Low collagen density	6 (35.30)	9 (52.90)	
High collagen density	11 (64.70)	8 (47.10)	
Verhoeff–Van Gieson, <i>n</i> (%)			0.0419
Absent or low number of elastic fibers	5 (29.40)	10 (58.80)	
Large number of elastic fibers	12 (70.60)	7 (41.20)	
Alcian blue, <i>n</i> (%)			0.7316
Small amount of matrix mucopolysaccharides	8 (47.10)	9 (52.90)	
Large amount of matrix mucopolysaccharides	9 (52.90)	8 (47.10)	

Abbreviations: HA, hyaluronic acid; MCAT, modified coronally advanced tunnel; SCTG, subepithelial connective tissue graft.

as regenerative processes after the surgical procedure led to the formation of scar tissue. A trend of increased density of the collagen network in the study group (11/17 biopsies graded ++) when compared to the control group (8/17 biopsies graded ++) was noted; however, it was not statistically significant (Table 3, Figure 2).

Histological evaluation of sections stained with Verhoeff–Van Gieson's stain showed that in the test group elastic fibers were present in moderate to high amount (++) in 12 out of 17 biopsies; only 5 biopsies showed no or very few elastic fibers (+). In the control group, the elastic fibers were conspicuous (++) in 7 out of 17 biopsies and they were absent or scarce (+) in 10 biopsies. These differences were found to be statistically significant (Figure 3).

The assessment of the slides stained with AB showed a very similar amount and distribution of mucopolysaccharides in both the test and control groups.

4 | DISCUSSION

The objective of this randomized, split-mouth, double-masked, controlled clinical trial was to clinically and histologically evaluate the effect of the adjunctive application of HA to MCAT+SCTG in the treatment of multiple recession Type 1 (RT1) and RT2 recessions over a period of 12 months. To the best of our knowledge, this is the first truly randomized controlled trial analyzing the additional benefits of the application of cross-linked HA in humans, but the outcomes observed in the test sides were not better than in the control sides. In the test sides, 12-month MRC was 84.32%, while in the control sides, it was 85.71% ($p = 0.9910$). Overall, both therapies produced high esthetic outcomes as the mean RES was 9.51 in the sides treated with HA+SCTG and 9.26 in the sides treated with SCTG alone. However, the application of HA improved STT ($p = 0.0091$).

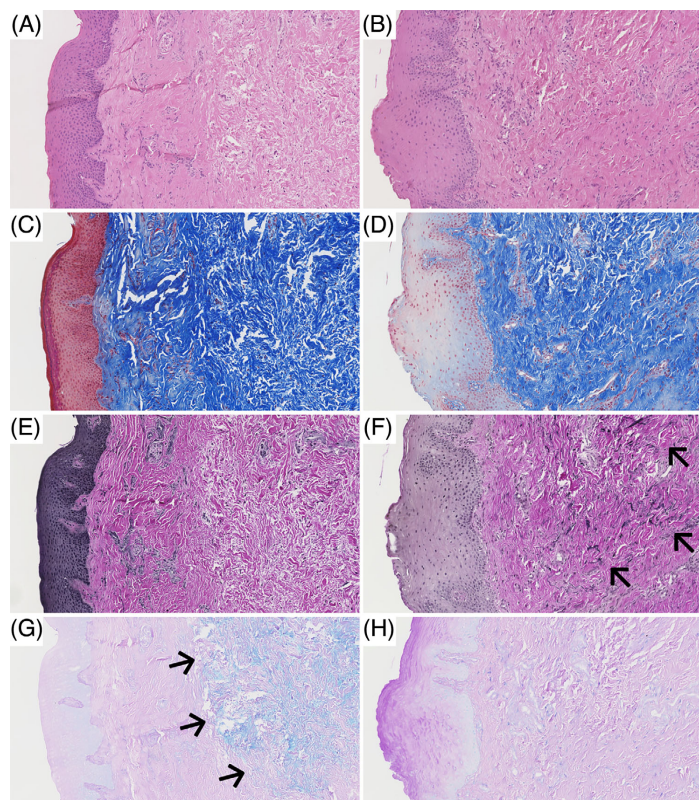


FIGURE 2 Examples of hematoxylin and eosin (H&E) and histochemical stains of sections made from one control group biopsy (left column) and one test group biopsy (right column). (A, B) Routine H&E stain shows no apparent differences in mucosal morphology between control and test groups. (C, D) Masson's trichrome stain shows increased density of collagen network in both control and test groups. (E, F) In Verhoeff–Van Gieson's stain, a high number of elastic fibers is seen in test group section (marked with arrows); in control group section elastic fibers are absent. (G, H) Alcian blue stain highlights a large amount of mucopolysaccharides in control group section (marked with arrows) and only a small amount in test group section. Original magnification in photomicrographs: 15 $\times$.

While several studies analyzed the effectiveness of various biologicals in enhancing the outcomes of surgical GR treatment, little data are available regarding the adjunctive application of HA. Nandanwar et al.²⁸ observed that there was a statistically significant difference in MRC in the test group ($92.9\% \pm 13.5\%$), where HA (Hyaloss matrix) was used in conjunction with bioabsorbable membrane-like polylactic/polyglycolic acid in comparison to the control group ($84.0\% \pm 21.7\%$), where SCTG was placed alone. In a study by Kumar et al.,¹³ linear HA (Gengigel 0.2% gel) was applied to coronally advanced flaps (CAF) in the test group; no statistically significant difference in MRC and complete root coverage (CRC) between experimental and

control groups were found after 24 weeks. Piloni et al.³⁰ observed an MRC of $93.8\% \pm 13.0\%$ for the sides treated with CAF+HA and $73.1\% \pm 20.8\%$ for the control sides ($p < 0.05$). Presumably, the use of a formulation consisting of both 1.6% cross-linked HA and 0.2% linear HA (Hyadent BG, Regedent) provided a significant improvement over CAF alone. Guldener et al.³¹ evaluated the healing of single mandibular GR treated either with MCAT or laterally closed tunnel (LCT) combined with HA and SCTG. Accordingly, MRC was 96.09%, CRC was achieved in 50% of GR, and KTW increased from 1.6 ± 0.8 mm to 4.9 ± 1.3 mm ($p < 0.0001$). Similar results were observed in another case series focusing on multiple RT1 and RT2.²⁶ However, in the

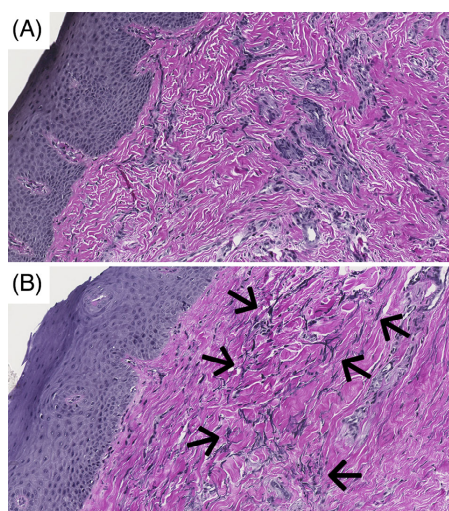


FIGURE 3 Comparison of elastic fiber network in control group biopsy section (A) and study group biopsy section (B). Verhoeff–Van Gieson stains elastic fibers black allowing visualization of elastin-rich extracellular matrix in study group mucosal sample (B, marked with arrows). Original magnification in photomicrographs: 20 $\times$.

absence of a control group, no objective conclusions could be drawn regarding the clinical benefit of using HA.

In the present study, RES evaluation revealed very high scores in terms of both tests and controls. The results are consistent with those published in previous MCAT studies and the conclusions of recent systematic reviews and meta-analyses.^{9,5,34} An interesting finding from the current trial is that the additional application of HA appeared to enhance STT. Different results of this parameter could be related to specific biological mechanisms triggered by HA during the healing process. Whether the observed difference in tissue characteristics between treatment modalities is indeed clinically relevant remains a matter of judgment. However, this finding may support the beneficial role of HA application in the healing sequelae. It seems not unreasonable to hypothesize that the use of HA may reduce soft tissue scarring. It was previously demonstrated that HA enhanced scarless wound healing by promoting the expression of genes encoding Type III collagen and TGF- β 3.¹⁹

Although the body of literature on surgical treatment of GR is now vast, only a few studies have reported on histological data.^{24,35–37} Histological evaluations of sections stained with Verhoeff–Van Gieson's stain showed a significantly greater number of elastic fibers visible in mucosal

biopsy samples taken from the test sides when compared to the control sides ($p = 0.0419$). We also observed a moderate but not statistically significant increase in collagen fiber density in test group samples. The separation between the connective tissue of the graft and the connective tissue of the flap was not clear. It may be inferred that the impact of HA was likely to be two-dimensional, both on the cell populations composing SCTG itself and on the cells composing the tissues located nearby the graft. Although speculative, the histological findings of the present study might possibly affect observed improvements in STT in the test sides. This is the first RCT that evidenced tissue morphogenesis by HA application in surgical treatment of GR, and for this reason, we could not compare our data with the existing literature. Quite recently Di Domenico et al.³⁷ evaluated histological changes in the gingival dimensions following multiple CAF with selective use of SCTG. They reported that collagen fibers were denser in the palatal graft than the gingival flap. However, unlike in our study, there was always a clear contrast between the palatal graft and the gingival flap. Moreover, the areas of exposed grafts showed an increase in collagen fibers. It is important to underline that in our study no SCTG was exposed, which may explain why we did not observe the increase in KTW. When used to treat GR, SCTG provided a repair outcome with long junctional epithelium and connective tissue attachment.³¹ Periodontal regeneration by new connective tissue, cementum, and bone was demonstrated to be achieved with EMD+CAF.^{38,39} By the same token, HA affected the expression of both mineralized tissue markers and cementoblast-specific genes *in vitro*, which led to the conclusion that by inducing cementogenesis HA might help in periodontal tissue regeneration.⁴⁰ However, until less invasive methods for assessing periodontal regeneration are devised, human histology may not be feasible to be carried out to confirm or dispute the laboratory findings.

From a biological standpoint, the moderate increase in collagen fiber density and the prominent elastin network in mucosa injected with HA might be explained by two phenomena. First, HA can interact with several cell surface receptors triggering a variety of signaling pathways controlling cells such as macrophages and fibroblasts.^{41,42} HA facilitated interaction between CD44 and EGFR, thus promoting MAPK/ERK phosphorylation and inducing TGF- β 1-dependent fibroblast proliferation.⁴³ Cross-linked HA was found to stimulate the TGF- β /Smad pathway in fibroblasts at the site of biopsy causing them to produce collagen fibers as well as elastin and fibrillin components of elastic fibers.^{20,44} Second, HA can bind to elastic fibers already present in normal mucosa preventing them from lysis and degradation caused by neutrophils and macrophages.⁴⁵ This protective role of HA has been extensively investigated in various medical indications, and there is evidence



suggesting that HA can be effective in preventing lung diseases associated with elastic fiber injury.^{46,47} Taken together with the findings from our study, it is not clear how the observed effects of HA on histological composition might attribute to the long-term results, but this aspect deserves further investigation.

As with any study, it is important to acknowledge the limitations of the present RCT. First, the split-mouth design of this trial removed a lot of interindividual variability from the estimates of the treatment outcome. However, the main issue stemming from such a design is the carry-across effect.⁴⁸ It was already implied that this phenomenon may have a downward biased effect on the difference in treatment outcomes. To limit the influence of the carry-over effect, both sides of the mouth were treated during a single surgery. Second, the selection of patients was restricted to subjects with multiple and symmetrical GR. Such recruitment may lead to some inherent bias toward patients with a higher risk of GR, which in turn may limit the external validity of the presented results. Finally, only a single formulation of HA was used. Besides these limitations the results were sound and in line with the outcomes of other studies published in recent years. However, it is vital to bear in mind that this is the first RCT assessing the effects of surgical treatment of multiple GR using MCAT with HA and SCTG; therefore, no direct comparisons with other studies were possible. The presented results can be used as an initial reference point for further trials.

To resolve the previously mentioned limitations, further research is required. It would also be advantageous to determine the optimal chemical concentration, biomolecular structure, timing, and application method of HA to attain more predictable outcomes of multiple GR coverage. To eliminate the carry-across effect, it may be advisable to implement the parallel-group design in future clinical trials.

5 | CONCLUSIONS

Within its limitations, the present study indicated that the treatment of multiple RT1 and RT2 recessions using MCAT+SCTG, with or without the addition of cross-linked HA, yielded comparable clinical improvements over a period of 12 months. The adjunctive application of HA significantly enhanced STT. Furthermore, this study provides novel histological evidence, suggesting that HA promotes a moderate increase in collagen fiber density and a significant improvement in the elastic fiber network. It remains to be seen whether the observed histological changes will be reflected in long-term outcomes.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Izabela Skierska collected the data, helped with their interpretation, created the study design, and participated in writing the manuscript. Bartłomiej Górski created the study design, recruited the patients, performed surgical procedures, helped with data interpretation, and participated in writing the manuscript. Łukasz Fus performed the histological examination, helped with data interpretation, and participated in writing the manuscript. All authors reviewed and approved the submission of the manuscript.

ACKNOWLEDGMENTS

This research received no specific grant from any funding agency in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors have no conflicts of interest to declare that are relevant to the content of this article.

ORCID

Izabela Skierska <https://orcid.org/0009-0008-6563-1096>

REFERENCES

- Wennström JL. Mucogingival therapy. *Ann Periodontol*. 1996;1(1):671-701. doi:10.1902/annals.1996.1.1.671
- Albandar JM, Kingman A. Gingival recession, gingival bleeding, and dental calculus in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol*. 1999;70(1):30-43. doi:10.1902/jop.1999.70.1.30
- Zucchelli G, Mounssif I. Periodontal plastic surgery. *Periodontol*. 2000. 2015;68(1):333-368. doi:10.1111/prd.12059
- Aroca S, Molnár B, Windisch P, et al. Treatment of multiple adjacent Miller class I and II gingival recessions with a Modified Coronally Advanced Tunnel (MCAT) technique and a collagen matrix or palatal connective tissue graft: a randomized, controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2013;40(7):713-720. doi:10.1111/jcpe.12112
- Azaripour A, Kissinger M, Farina VS, et al. Root coverage with connective tissue graft associated with coronally advanced flap or tunnel technique: a randomized, double-blind, mono-centre clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2016;43(12):1142-1150. doi:10.1111/jcpe.12627
- Mayta-Tovalino F, Barboza JJ, Pasupuleti V, Hernandez AV. Efficacy of Tunnel Technique (TUN) versus Coronally Advanced Flap (CAF) in the management of multiple gingival recession defects: a meta-analysis. *Int J Dent*. 2023;2023:8671484. doi:10.1155/2023/8671484
- Neves FLDS, Augusto Silveira C, Mathias-Santamaria IF, et al. Randomized clinical trial evaluating single maxillary gingival recession treatment with connective tissue graft and tunnel or trapezoidal flap: 2-year follow-up. *J Periodontol*. 2020;91(8):1018-1026. doi:10.1002/JPER.19-0436
- Santamaria MP, Neves FLDS, Silveira CA, et al. Connective tissue graft and tunnel or trapezoidal flap for the treatment of single maxillary gingival recessions: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2017;44(5):540-547. doi:10.1111/jcpe.12714



9. Tavelli L, Barootchi S, Nguyen TVN, Tattan M, Ravidà A, Wang HL. Efficacy of tunnel technique in the treatment of localized and multiple gingival recessions: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontol*. 2018;89(9):1075-1090. doi:10.1002/JPER.18-0066
10. Ozenci I, Ipci SD, Cakar G, Yilmaz S. Tunnel technique versus coronally advanced flap with acellular dermal matrix graft in the treatment of multiple gingival recessions. *J Clin Periodontol*. 2015;42(12):1135-1142. doi:10.1111/jcpe.12477
11. Aroca S, Keglevich T, Nikolidakis D, et al. Treatment of class III multiple gingival recessions: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2010;37(1):88-97. doi:10.1111/j.1600-051X.2009.01492.x
12. Sculean A, Cosgarea R, Stähli A, et al. Treatment of multiple adjacent maxillary Miller Class I, II, and III gingival recessions with the modified coronally advanced tunnel, enamel matrix derivative, and : a report of 12 cases. *Quintessence Int*. 2016;47(8):653-659. doi:10.3290/j.qi.a36562
13. Kumar R, Srinivas M, Pai J, Suragimath G, Prasad K, Polepalle T. Efficacy of hyaluronic acid (hyaluronan) in root coverage procedures as an adjunct to coronally advanced flap in Millers Class I recession: a clinical study. *J Indian Soc Periodontol*. 2014;18(6):746-750. doi:10.4103/0972-124X.147411
14. Cieślak-Wegemund M, Wierucka-Młynarczyk B, Tanasiewicz M, Gilowski L. Tunnel technique with collagen matrix compared with connective tissue graft for treatment of periodontal recession: a randomized clinical trial. *J Periodontol*. 2016;87(12):1436-1443. doi:10.1902/jop.2016.150676
15. Ferguson EL, Roberts JL, Moseley R, Griffiths PC, Thomas DW. Evaluation of the physical and biological properties of hyaluronan and hyaluronan fragments. *Int J Pharm*. 2011;420(1):84-92. doi:10.1016/j.ijpharm.2011.08.031
16. Tavianatou AG, Cao I, Franchi M, Piperigkou Z, Galesso D, Karamanos NK. Hyaluronan: molecular size-dependent signaling and biological functions in inflammation and cancer. *FEBS J*. 2019;286(15):2883-2908. doi:10.1111/febs.14777
17. Pirmazar P, Wolinsky L, Nachmani S, Haake S, Pilloni A, Bernard GW. Bacteriostatic effects of hyaluronic acid. *J Periodontol*. 1999;70(4):370-374. doi:10.1902/jop.1999.70.4.370
18. Fallacara A, Baldini E, Manfredini S, Vertuani S. Hyaluronic acid in the third millennium. *Polymers*. 2018;10(7):701. doi:10.3390/polym10070701
19. Asparuhova MB, Kiryak D, Eliezer M, Mihov D, Sculean A. Activity of two hyaluronan preparations on primary human oral fibroblasts. *J Periodontol Res*. 2019;54(1):33-45. doi:10.1111/jre.12602
20. Fan Y, Choi TH, Chung JH, Jeon YK, Kim S. Hyaluronic acid-cross-linked filler stimulates collagen type 1 and elastic fiber synthesis in skin through the TGF- β /Smad signaling pathway in a nude mouse model. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2019;72(8):1355-1362. doi:10.1016/j.bjps.2019.03.032
21. West DC, Hampson IN, Arnold F, Kumar S. Angiogenesis induced by degradation products of hyaluronic acid. *Science*. 1985;228(4705):1324-1326. doi:10.1126/science.2408340
22. Wikesjö UM, Selvig KA. Periodontal wound healing and regeneration. *Periodontol 2000*. 1999;19:21-39. doi:10.1111/j.1600-0757.1999.tb00145.x
23. Shirakata Y, Imafuji T, Nakamura T, et al. Cross-linked hyaluronic acid gel with or without a collagen matrix in the treatment of class III furcation defects: a histologic and histomorphometric study in dogs. *J Clin Periodontol*. 2022;49(10):1079-1089. doi:10.1111/jcpe.13694
24. Shirakata Y, Nakamura T, Kawakami Y, et al. Healing of buccal gingival recessions following treatment with coronally advanced flap alone or combined with a cross-linked hyaluronic acid gel. An experimental study in dogs. *J Clin Periodontol*. 2021;48(4):570-580. doi:10.1111/jcpe.13433
25. Shirakata Y, Imafuji T, Nakamura T, et al. Periodontal wound healing/regeneration of two-wall intrabony defects following reconstructive surgery with cross-linked hyaluronic acid-gel with or without a collagen matrix: a preclinical study in dogs. *Quintessence Int*. 2021;52(4):308-316. doi:10.3290/j.qi.b937003
26. Manfredini M, Beretta M, Maiorana C, Tandurella M, Salina FE, Poli PP. Effectiveness of adjunctive hyaluronic acid application in surgical treatment of gingival recession sites. *Prosthesis*. 2023;5(3):635-646. doi:10.3390/prosthesis5030045
27. Cairo F, Nieri M, Cincinelli S, Mervelt J, Pagliaro U. The interproximal clinical attachment level to classify gingival recessions and predict root coverage outcomes: an explorative and reliability study. *J Clin Periodontol*. 2011;38(7):661-666. doi:10.1111/j.1600-051X.2011.01732.x
28. Nandanwar J, Bhongade ML, Puri S, Dhadse P, Datir M, Kasatwar A. Comparison of effectiveness of hyaluronic acid in combination with polylactic acid/polyglycolic acid membrane and subepithelial connective tissue graft for the treatment of multiple gingival recession defects in human: a clinical study. *J Datta Meghe Inst Med Sci Univ*. 2018;13:48-53.
29. Górski B, Skierska I, Szerszeń M, Mańka-Malara K. Tunnel technique with cross-linked hyaluronic acid in addition to compared with connective tissue graft alone, for the treatment of multiple gingival recessions: 6-month outcomes of a randomized clinical trial. *Clin Oral Invest*. 2023;27(5):2395-2406. doi:10.1007/s00784-023-04887-6
30. Pilloni A, Schmidlin PR, Sahrman P, Sculean A, Rojas MA. Effectiveness of adjunctive hyaluronic acid application in coronally advanced flap in Miller class I single gingival recession sites: a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Invest*. 2019;23(3):1133-1141. doi:10.1007/s00784-018-2537-4
31. Guldener K, Lanzrein C, Eliezer M, Katsaros C, Stähli A, Sculean A. Treatment of single mandibular recessions with the modified coronally advanced tunnel or laterally closed tunnel, hyaluronic acid, and : a report of 12 cases. *Quintessence Int*. 2020;51(6):456-463. doi:10.3290/j.qi.a44492
32. Lanzrein C, Guldener K, Imber JC, Katsaros C, Stähli A, Sculean A. Treatment of multiple adjacent recessions with the modified coronally advanced tunnel or laterally closed tunnel in conjunction with cross-linked hyaluronic acid and: a report of 15 cases. *Quintessence Int*. 2020;51(9):710-719. doi:10.3290/j.qi.a44808
33. Cairo F, Nieri M, Cattabriga M, et al. Root coverage esthetic score after treatment of gingival recession: an interrater agreement multicenter study. *J Periodontol*. 2010;81(12):1752-1758. doi:10.1902/jop.2010.100278
34. Cairo F, Barootchi S, Tavelli L, et al. Aesthetic- and patient-related outcomes following root coverage procedures: a systematic review and network meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2020;47(11):1403-1415. doi:10.1111/jcpe.13346
35. McGuire MK, Cochran DL. Evaluation of human recession defects treated with coronally advanced flaps and either enamel



- matrix derivative or connective tissue. Part 2: histological evaluation. *J Periodontol*. 2003;74(8):1126-1135. doi:10.1902/jop.2003.74.8.1126
36. McGuire MK, Scheyer ET, Schupbach P. A prospective, case-controlled study evaluating the use of enamel matrix derivative on human buccal recession defects: a human histologic examination. *J Periodontol*. 2016;87(6):645-653. doi:10.1902/jop.2016.150459
 37. Di Domenico GL, Di Martino M, Arrigoni G, Aroca S, de Sanctis M. Multiple coronally advanced flap with a selective use of connective tissue graft: a 3-year prospective clinical and histological study. *J Periodontol*. 2023;94(10):1200-1209. doi:10.1002/JPER.22-0632
 38. Shirakata Y, Sculean A, Shinohara Y, et al. Healing of localized gingival recessions treated with a coronally advanced flap alone or combined with an enamel matrix derivative and a porcine acellular dermal matrix: a preclinical study. *Clin Oral Investig*. 2016;20(7):1791-1800. doi:10.1007/s00784-015-1680-4
 39. Shirakata Y, Nakamura T, Shinohara Y, et al. Split-mouth evaluation of connective tissue graft with or without enamel matrix derivative for the treatment of isolated gingival recession defects in dogs. *Clin Oral Investig*. 2019;23(8):3339-3349. doi:10.1007/s00784-018-2750-1
 40. Hakki SS, Bozkurt SB, Sculean A, Božić D. Hyaluronic acid enhances cell migration, viability, and mineralized tissue-specific genes in cementoblasts. *J Periodontol Res*. 2023. doi:10.1111/jre.13201. Epub ahead of print. PMID: 38069670.
 41. Gupta RC, Lall R, Srivastava A, Sinha A. Hyaluronic acid: molecular mechanisms and therapeutic trajectory. *Front Vet Sci*. 2019;6:192. doi:10.3389/fvets.2019.00192
 42. Marinho A, Nunes C, Reis S. Hyaluronic acid: a key ingredient in the therapy of inflammation. *Biomolecules*. 2021;11(10):1518. doi:10.3390/biom11101518
 43. Meran S, Luo DD, Simpson R, et al. Hyaluronan facilitates transforming growth factor- β 1-dependent proliferation via CD44 and epidermal growth factor receptor interaction. *J Biol Chem*. 2011;286(20):17618-17630. doi:10.1074/jbc.M111.226563
 44. Paliwal S, Fagien S, Sun X, et al. Skin extracellular matrix stimulation following injection of a hyaluronic acid-based dermal filler in a rat model. *Plast Reconstr Surg*. 2014;134(6):1224-1233. doi:10.1097/PRS.0000000000000753
 45. Cantor JO, Shteyngart B, Cerreta JM, Liu M, Armand G, Turino GM. The effect of hyaluronan on elastic fiber injury in vitro and elastase-induced airspace enlargement in vivo. *Proc Soc Exp Biol Med*. 2000;225(1):65-71. doi:10.1046/j.1525-1373.2000.22508.x
 46. Cantor J, Ma S, Turino G. A pilot clinical trial to determine the safety and efficacy of aerosolized hyaluronan as a treatment for COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2017;12:2747-2752. doi:10.2147/COPD.S142156
 47. Cantor JO, Cerreta JM, Ochoa M, et al. Aerosolized hyaluronan limits airspace enlargement in a mouse model of cigarette smoke-induced pulmonary emphysema. *Exp Lung Res*. 2005;31(4):417-430. doi:10.1080/01902140590918669
 48. Lesaffre E, Philstrom B, Needleman I, Worthington H. The design and analysis of split-mouth studies: what statisticians and clinicians should know. *Stat Med*. 2009;28(28):3470-3482. doi:10.1002/sim.3634

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section at the end of this article.

How to cite this article: Skierska I, Górski B, Fus Ł. Tunnel technique and subepithelial connective tissue graft, with or without cross-linked hyaluronic acid, in the treatment of multiple gingival recessions: 12-month outcomes of a randomized clinical trial. *J Periodontol*. 2024;1-13. <https://doi.org/10.1002/JPER.24-0093>

Article

Tunnel Technique and Subepithelial Connective Tissue Graft, With or Without Cross-Linked Hyaluronic Acid, in the Treatment of Multiple Gingival Recessions: Prognostic Parameters for Clinical Treatment Outcomes of Randomized Controlled Trial

Bartłomiej Górski ^{1,*}, Izabela Maria Skierska ¹, Kacper Nijakowski ² and Aniela Brodzikowska ³

¹ Department of Periodontal and Oral Mucosa Diseases, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland; iza.maria.skierska@gmail.com

² Department of Conservative Dentistry and Endodontics, Poznan University of Medical Sciences, 60-812 Poznan, Poland; kacpernijakowski@ump.edu.pl

³ Department of Conservative Dentistry, Medical University of Warsaw, 02-097 Warsaw, Poland; aniela.brodzikowska@wum.edu.pl

* Correspondence: bartlomiej.gorski@wum.edu.pl; Tel.: +48-788338362



Citation: Górski, B.; Skierska, I.M.; Nijakowski, K.; Brodzikowska, A. Tunnel Technique and Subepithelial Connective Tissue Graft, With or Without Cross-Linked Hyaluronic Acid, in the Treatment of Multiple Gingival Recessions: Prognostic Parameters for Clinical Treatment Outcomes of Randomized Controlled Trial. *J. Clin. Med.* **2024**, *13*, 6758. <https://doi.org/10.3390/jcm13226758>

Academic Editors: Glauco Chisci and Yiu Yan Leung

Received: 10 October 2024

Revised: 1 November 2024

Accepted: 8 November 2024

Published: 10 November 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Objectives: This study aimed to investigate factors that influence the 12-month outcomes after the treatment of multiple gingival recessions (GRs) with a modified coronally advanced tunnel (MCAT) and a subepithelial connective tissue graft (SCTG), with cross-linked hyaluronic acid (HA, tests) or without (controls). **Materials and Methods:** Twenty-four patients with 266 GRs were treated. A logistic regression model was set to identify the baseline parameters that could predict the 12-month outcomes. The study protocol was registered at ClinicalTrials.gov (ID No. NCT05045586). **Results:** The evaluated clinical and esthetic parameters showed marked improvement in both groups without any statistically significant differences between the groups, with the exception of the soft tissue texture (STT). The STT was in favor of the HA group (0.96 versus 0.73, $p = 0.0091$). The likelihood of an MRC > 85%, of achieving CRC, and of gaining an RES = 10 was the highest for the incisors (reference group) and the lowest for the molars (OR = 0.046, $p = 0.005$). With each 1 mm increase in the baseline clinical attachment level, the odds of failure (MRC < 85%, not achieving CRC) increased, whereas each 1 mm increase in the baseline keratinized tissue width (KTW) improved the chances of an MRC > 85%, of achieving CRC, and of gaining an RES = 10. The application of HA increased the likelihood of a perfect RES more than twofold (OR = 2.683, $p = 0.001$). **Conclusions:** The application of HA improved the 12-month esthetic outcomes after the treatment of GRs with the MCAT technique. The baseline CAL, KTW, and tooth type predicted the 12-month MRC, CRC, and RES. An evaluation of the baseline characteristics of the surgical area might help clinicians develop individualized treatment plans.

Keywords: esthetics; hyaluronic acid; logistic regression; modified coronally advanced tunnel technique; multiple gingival recessions; subepithelial connective tissue graft

1. Introduction

The apical migration of the gingival margin (GM) relative to the cementoenamel junction (CEJ) is described as a gingival recession (GR) [1]. GRs affect both younger and older populations, with a prevalence of up to 70% in individuals aged >50 years [2]. Based on the interproximal clinical attachment loss, GRs are classified into recession type 1 (RT1), with no loss of interdental attachment; recession type 2 (RT2), when the interdental attachment loss is smaller than the buccal attachment loss; and recession type 3 (RT3), when the interdental attachment loss is greater than the buccal attachment loss [3]. GRs may lead to an impaired esthetic appearance, suboptimal plaque control, caries and/or non-carious cervical lesions, and teeth hypersensitivity [4].

Several surgical techniques have been introduced for the treatment of GRs, with an autogenous subepithelial connective tissue graft (SCTG) being used as the “gold standard” [5]. A recent systematic review showed a high efficiency for the modified coronally advanced tunnel technique (MCAT), as evidenced by a mean root coverage (MRC) of $87.87 \pm 16.45\%$ for multiple GRs and of $82.75 \pm 19.7\%$ for single GRs [6]. Another network meta-analysis found that the tunnel technique was significantly associated with a higher root coverage esthetic score (RES) than a coronally advanced flap (CAF) (0.84 [95% CI = 0.15–1.53]; $p = 0.01$) [7]. Due to a limited flap extension and a lack of vertical incisions, an MCAT offers several benefits, such as improved blood supply and graft nutrition, faster healing, and reduced postoperative morbidity [7,8]. Even though multiple GRs anatomically and technically are more difficult to treat, an SCTG combined with an MCAT has been suggested as a safe, predictable, and highly effective surgical approach [9–11].

With the aim of improving soft tissue healing in GR treatments, different biomaterials have been studied, among which an acellular dermal matrix (ADM) graft, a porcine-derived collagen matrix (XDM), an enamel matrix derivative, a platelet-rich fibrin membrane (PRF), and hyaluronic acid (HA) attracted particular attention [12–15]. HA is a multifunctional natural biopolymer, a linear glycosaminoglycan (GAG) composed of disaccharides containing glucuronic acid and N-acetylglucosamine, which is a paramount constituent of the extracellular matrix [16,17]. It is well known for its antibacterial, antifungal, and anti-inflammatory properties, in addition to its angiogenic and homeostatic effects that enhance wound healing in a wide range of human tissues, including periodontal tissues [18]. A recently published systematic review on the additional benefit of HA in the surgical treatment of GRs concluded that there was an advantageous effect on the clinical outcomes in the short term [19]. The overall magnitude, however, was limited, owing to large heterogeneity among the surgical modalities, commercial formulations, and application methods of HA.

The favorable outcomes of periodontal plastic procedures bank on a plethora of various parameters. The possible factors potentially associated with the clinical outcomes after the surgical treatment of GRs can be divided into patient-related (plaque control, smoking, general health, compliance), local (recession height and width, presence of keratinized tissue, gingival thickness, loss of interproximal attachment, tooth type and tooth location, presence of scars and frenula), and surgical-related (flap design, root surface biomodification, type of graft, flap tension) [20–22]. All of these factors should be taken into account in the clinical setting. To the best of the authors’ knowledge, no studies have yet evaluated site-specific characteristics that might predict the results after the root coverage of multiple RT1 and RT2 recessions with an MCAT, an SCTG, and HA. Therefore, the aim of this article was to identify potential preoperative predictors of the clinical and esthetic outcomes 12 months after the treatment of multiple GRs with an MCAT, an SCTG, and HA.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design

This study was conducted as a split-mouth, double-blinded, controlled trial (RCT). It was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee of the Medical University of Warsaw (approval No. KB/119/2021). The study was registered in ClinicalTrials.gov (NCT05045586). All the patients signed informed consent forms prior to the treatment. The patients and researchers who participated in the study were blinded to the allocation of defects to the tested interventions.

This is a secondary analysis of the data derived from a study published elsewhere [23].

This manuscript was prepared in line with the CONSORT guidelines.

2.2. Sample Size Calculation

The sample size calculation applied prior to the recruitment was based on the primary outcome of the mean root coverage (MRC). The expected mean difference was 8.92% and the expected standard deviation was 7.39% per group [24]. Twelve subjects per group were required to detect an 8.92% difference between the groups, assuming 80% power

and $\alpha = 0.05$. Considering the availability of cases, the final sample size was decided to be 24 patients.

2.3. Study Endpoints

The primary endpoint was the mean root coverage (MRC) at 12 months [25]. The secondary endpoints were the GR reduction, the clinical attachment level (CAL) gain, the keratinized tissue thickness (KTW) increase, the gingival thickness (GT) increase, and the RES score [25].

2.4. Study Sample

Subject recruitment started in April 2021 and finalized in May 2022 among patients referred to the Department of Periodontology and Oral Mucosa Diseases of the Medical University of Warsaw (Figure 1). Systematically healthy subjects who were eighteen years old or older were selected to participate in the RCT if they were diagnosed with multiple gingival recessions of RT1 and/or RT2 that were at least 1 mm deep with a detectable CEJ [3]. They had to demonstrate good oral hygiene (full-mouth plaque < 15% and full-mouth bleeding on probing < 15%) [26]. The exclusion criteria were as follows: (1) gingival recessions of type III (RT3); (2) a systematic disease that compromises wound healing or hemostasis (e.g., tumors, cardiovascular diseases, uncontrolled diabetes mellitus); (4) infectious diseases (hepatitis, tuberculosis, HIV); (4) caries lesions or restorations in the cervical area; (5) untreated periodontal conditions; (6) the use of medications affecting periodontal status (anti-inflammatory, antibiotic, anti-resorptive, or immunosuppressive medications, or phenytoin); (7) smoking; (8) drug and alcohol abuse; and (9) pregnancy or lactation [9,26].

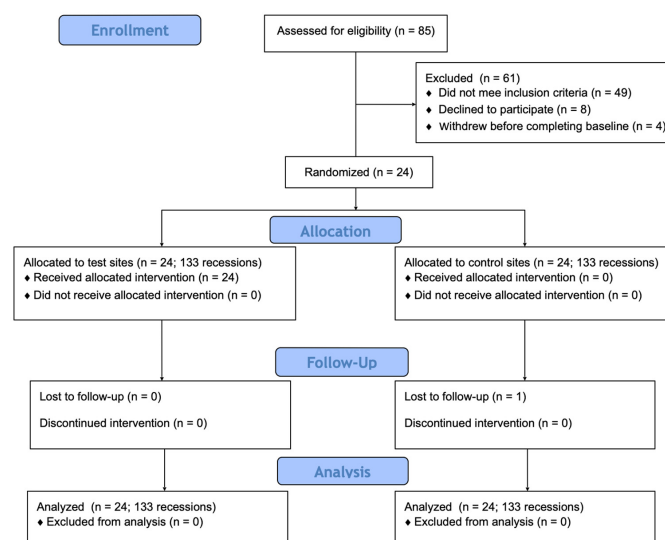


Figure 1. Consort diagram showing study design.

2.5. Randomization and Allocation Concealment

Randomization was conducted by a statistician not involved in the study by means of a computer-generated randomization list. The allocation concealment was sealed in opaque envelopes. The envelope was opened just before the surgery and the treatment modality was revealed to the operator. The patient was blinded to the treatment allocation.

2.6. Surgical Intervention

All the procedures were performed by one surgeon (BG). Both sides were treated during the same appointment. After local anesthesia, the surgical area was prepared according to the modified coronally advanced tunnel technique [27]. Briefly, up to the MGJ, a full-thickness flap was prepared with a small elevator, and above the MGJ, a split-thickness flap was dissected. The papillae were detached in their buccal aspects with the periosteum. Gentle root planing was performed with a Gracey curette. In the next step, a free gingival graft was harvested from the palate and deepithelialized outside the mouth to an SCTG [28]. The length of the SCTG depended on the prepared tunnel; a width of 4 mm and a thickness of less than 1 mm was aimed for. The donor site was covered with a hemostatic collagen sponge secured with mattress sutures (Seralon 4/0 18 mm 3/8, Serag-Wiessner GmbH & Co. KG, Naila, Germany). For the test side, cross-linked hyaluronic acid (HA, hyaDENT BG, Bioscience, Germany) was applied under the flap onto the root surface according to the manufacturer's recommendations [29]. The SCTG was inserted into the tunnel and positioned at the CEJ level with resorbable sling sutures (PGA Resorba 6/0 11 mm 3/8, RESORBA Medical GmbH, Nürnberg, Germany), and HA was applied to the entire surface of the SCTG [29]. The SCTG was fully covered with the coronally advanced flap stabilized with non-resorbable monofilament sling sutures (Seralon 6/0 12 mm 3/8, Serag-Wiessner GmbH & Co. KG, Naila, Germany). The control side was treated in the same manner, but without the HA application.

After surgery, the patients were given 400 mg of ibuprofen and were instructed to take the second dose 8 h later [30]. They were asked to rinse twice daily with a 0.12% chlorhexidine digluconate solution for the first 3 weeks and to avoid toothbrushing and flossing. A total of 14 days after the surgery, the sutures were removed. Oral and written instructions were given to the patients. The patients were scheduled for recall appointments at 1, 3, 6, and 12 months. The clinical outcomes in one patient are shown in Figure 2.

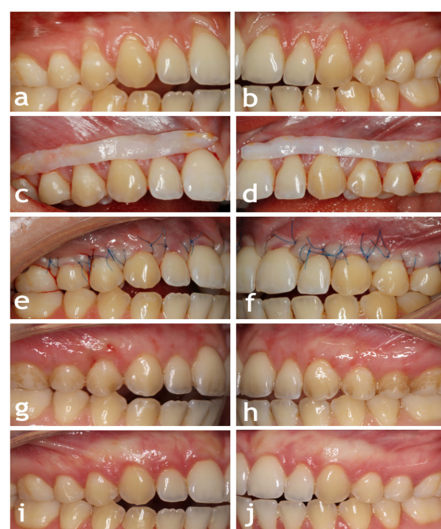


Figure 2. (a) The initial condition of gingival recessions located at teeth 16–11 on the control side. (b) The initial condition of gingival recessions located at teeth 21–26 on the test side. (c) Subepithelial connective tissue graft on the control side. (d) Subepithelial connective tissue graft on the test side. (e) Immediate postoperative view on the control side. (f) Immediate postoperative view on the test side. (g) Two-week postoperative view on the control side. (h) Two-week postoperative view on the test side. (i) Twelve-month postoperative view on the control side. (j) Twelve-month postoperative view on the test side.

2.7. Clinical Outcomes

The clinical parameters were assessed by one calibrated and blinded examiner (IS) at baseline and 12 months after the surgery. The examiner recorded the gingival recession height (GRH), recession width (RW), probing pocket depth (PPD), CAL, KTW, and GT in eight patients with at least four contralateral GRs who did not participate in the present study [9]. Two sets of measurements were performed 24 h apart. The intra-examiner intra-class correlation coefficient was 0.921 (95% CI: 0.894–0.939) for the GRH, 0.889 (0.830–0.914) for the RW, 0.902 (0.863–0.928) for the PPD, 0.893 (0.845–0.922) for the CAL, and 0.898 (0.850–0.927) for the KTW.

The following clinical measurements were recorded: (1) the gingival recession height (GRH)—the distance between the CEJ and the GM on the mid-buccal side [9]; (2) the recession width (RW)—the horizontal distance between the mesial and distal margins of the recession at the CEJ [9]; (3) the probing pocket depth (PPD)—the distance between the GM and the bottom of the pocket [9]; (4) the clinical attachment level (CAL)—the distance between the CEJ and the bottom of the pocket [9]; (5) the keratinized tissue width (KTW)—the distance between the GM and the MGJ [9]; and (6) the gingival thickness (GT), measured at the mid-buccal point of the tooth 3 mm apically from the GM [9].

A periodontal probe (PCP UNC 15; Hu-Friedy, Chicago, Illinois, USA) was used to measure the GR, RW, PPD, CAL, and KTW. The measurements were rounded down to the nearest half millimeter. The GT was evaluated using an endodontic file, 25 ISO (Poldent, Warsaw, Poland), with a stopper positioned perpendicularly to the gingiva until the surface of alveolar bone was reached. The distance between the tip of the file and the stopper was recorded using an electronic caliper with an accuracy of 0.01 (YATO YT-7201; Toya, Wrocław, Poland). The clinical parameters were registered at baseline and 12 months post-operatively.

The esthetic outcomes were assessed 12 months after the surgery by a single-blinded investigator (MS) in accordance with the RES [7,31]. The five constituents of the RES were evaluated: (1) the gingival margin (GM): 0 points—root coverage failure, 3 points—partial root coverage, 6 points—complete root coverage; (2) the marginal tissue contour (MTC): 0 points—irregular gingival contour, not following the CEJ and 1 point—scalloped gingival contour, following the CEJ; (3) the soft tissue texture (STT): 0 points—the presence of scars and 1 point—the absence of scars; (4) the mucogingival junction (MGJ): 0 points—the MGJ not aligned with the MGJ of adjacent teeth and 1 point—the MGJ aligned with the MGJ of adjacent teeth; and (5) the gingival color (GC): 0 points—the color mismatches adjacent teeth and 1 point—the color matches adjacent teeth. The ideal maximum esthetic score was 10.

2.8. Statistical Analysis

The results were presented using mean values, standard deviations (SD), percentages, and frequencies. The Shapiro–Wilk test confirmed that the data set was normally distributed. Consequently, Student's *t*-test was used for comparing the means, while Pearson's chi-square test was used to compare fractions of the test and control groups. The following parameters were calculated: (1) the mean root coverage (MRC) = $GR0 - GR12 / GR0 \times 100\%$; (2) the GR reduction = $GR0 - GR12$; (3) the CAL gain = $CAL0 - CAL12$; (4) the KTW gain = $KTW12 - KTW0$; and (5) the GT gain = $GT12 - GT0$.

To determine the predictive values of the preoperative factors for the 12-month outcomes, logistic regression models were created as follows: (1) MRC: $\leq 85\%$ —low group and $>85\%$ —high group; (2) complete root coverage (CRC): binary variable; (3) RES: ≤ 9 —low group and 10 —high group; (4) KTW gain: ≤ 3 mm—low group and >3 mm—high group; (5) GT gain: ≤ 2 mm—low group and >2 mm—high group [32]. As independent variables, the HA application, tooth type (incisor/canine/premolar/molar), tooth position (maxilla/mandible), PPD, CAL, GRH, RW, KTW, GT, and recession type pre-operatively were used. All of the abovementioned parameters were analyzed with univariate logistic regression models. Next, multivariate logistic regression models were constructed using

the stepwise forward technique, and V-fold cross-validation was performed, reporting the parameters of the training and testing curves. The goodness of fit was assessed by the Hosmer–Lemeshow test (where $p > 0.05$ means good fitness). Also, a multidimensional correspondence analysis was performed to confirm the relationship between the qualitative variables. The statistical significance was set at $\alpha = 0.05$ and all the analyses were carried out with the Statistica Software, version 13.3 (Statsoft, Cracow, Poland).

3. Results

Twenty-four patients (19 females and 5 males aged between 19 and 50, with a mean age of 32.54 ± 6.67 years) with multiple symmetrical recession defects were enrolled in the study, all of whom were evaluated after 1 year. A total of 266 GRs (210 recessions in the maxilla and 56 in the mandible) were treated. Healing was uneventful and none of the patients developed any significant complications or allergic reactions. The initial characteristics of the treated sites are presented in Table 1, showing a well-balanced distribution between the treatment groups.

Table 1. Initial characteristics of the test and control groups.

Variables	Test Group (SCTG + HA) (N = 24, n = 133)	Control Group (SCTG) (N = 24, n = 133)
Gender (n)		
Women	19	19
Men	5	5
Tooth type (n)		
Incisors	42	42
Canines	23	23
Premolars	45	45
Molars	23	23
Tooth position (n)		
Maxillary teeth	108	105
Mandibular teeth	25	28
Type of GR (n,%)		
RT1	59 (44%)	54 (41%)
RT2	74 (56%)	79 (59%)

GR—gingival recession; HA—hyaluronic acid; N—number of patients; n—number of recessions; RT—recession type; SCTG—subepithelial connective tissue graft.

The mean difference for the primary endpoint was not statistically significant. After 12 months, the MRC was 84.32% for the HA + SCTG group and 85.71% for the SCTG group ($p = 0.9910$). Both groups demonstrated significant improvements in all the evaluated secondary endpoints, namely the GR reduction, CAL gain, GT gain, and KTW gain endpoints. None of the differences between the groups were statistically significant (Table 2).

Both groups achieved favorable esthetics. The overall RES values did not show statistically significant differences between the treatment arms (Table 3). The application of HA resulted in the achievement of a significantly higher value for the soft tissue texture (STT) (0.96 ± 0.20 for MCAT + HA + SCTG vs. 0.73 ± 0.22 for MCAT + SCTG, respectively).

Table 2. Clinical parameters (mean + SD) at baseline and 12 months post-operative.

	Baseline	12 Months Post-Operative	<i>p</i> (Baseline–1 Year)
MRC for SCTG + HA		84.32 ± 34.46	
MRC for SCTG		85.71 ± 36.43	
<i>p</i> (test vs. control)		0.9910	
CRC for SCTG + HA		92.12 ± 28.14	
CRC for SCTG		94.61 ± 24.71	
<i>p</i> (test vs. control)		0.8994	
GRH for SCTG + HA	1.77 ± 1.13	0.12 ± 0.48	<0.0001
GRH for SCTG	1.67 ± 1.12	0.08 ± 0.39	<0.0001
<i>p</i> (test vs. control)	0.8121	0.9983	
GR red for SCTG+HA		1.65 ± 1.09	<0.0001
GR red for SCTG		1.59 ± 1.14	<0.0001
<i>p</i> (test vs. control)		0.9205	
RW for SCTG + HA	3.24 ± 1.8	0.35 ± 1.29	<0.0001
RW for SCTG	3.32 ± 1.82	0.25 ± 1.09	<0.0001
<i>p</i> (test vs. control)	0.9881	0.2332	
PPD for SCTG + HA	1.42 ± 0.54	1.42 ± 0.53	0.9982
PPD for SCTG	1.49 ± 0.57	1.49 ± 0.54	0.4837
<i>p</i> (test vs. control)	0.3112	0.7811	
CAL for SCTG + HA	3.08 ± 1.28	0.50 ± 0.85	<0.0001
CAL for SCTG	3.08 ± 1.22	0.57 ± 0.80	<0.0001
<i>p</i> (test vs. control)	0.9801	0.8993	
KTW for SCTG + HA	2.80 ± 1.38	3.57 ± 1.49	0.2092
KTW for SCTG	2.69 ± 1.28	3.57 ± 1.26	0.2100
<i>p</i> (test vs. control)	0.8911	0.8938	
KTW gain for SCTG + HA		0.68 ± 1.40	
KTW gain for SCTG		0.76 ± 1.36	
<i>p</i> (test vs. control)		0.5882	
GT for SCTG + HA	1.68 ± 0.72	2.54 ± 0.74	0.0351
GT for SCTG	1.70 ± 0.75	2.54 ± 0.67	0.0388
<i>p</i> (test vs. control)	0.9278	0.9992	
GT gain for SCTG + HA		0.81 ± 0.79	
GT gain for SCTG		0.77 ± 0.74	
<i>p</i> (test vs. control)		0.7862	

CAL—clinical attachment level; CRC—complete root coverage; GRH—gingival recession height; GR red - gingival recession reduction; GT—gingival thickness; HA—hyaluronic acid; KTW—keratinized tissue width; MRC—mean root coverage; PPD—probing pocket depth; RW—recession width; SCTG—subepithelial connective tissue graft.

Table 3. Esthetic outcomes (mean + SD) 12 months after surgery.

	GM	MTC	STT	MGJ	GC	RES
SCTG + HA	5.75 ± 0.83	0.90 ± 0.30	0.96 ± 0.20	0.92 ± 0.28	0.98 ± 0.14	9.51 ± 1.01
SCTG	5.78 ± 0.87	0.87 ± 0.34	0.73 ± 0.22	0.89 ± 0.31	0.98 ± 0.13	9.26 ± 1.10
<i>p</i> (test vs. control)	0.9491	0.9271	0.0091	0.7703	0.9981	0.7292

GC—gingival color; GM—gingival margin; HA—hyaluronic acid; MGJ—mucogingival junction alignment; MTC—marginal tissue contour; RES—root coverage esthetic score; SCTG—subepithelial connective tissue graft; STT—soft tissue texture.

For univariate logistic regression, the significant predictors are shown in Table 4. For both the MRC and CRC, identical results were obtained. The 12-month clinical effects of the procedure differed significantly between the types of teeth; the best results were achieved for the incisors (reference group) and the weakest were achieved for the molars (OR = 0.031, *p* = 0.001). As for the evaluated periodontal parameters, all showed significant predictive effects. The higher the values of the baseline PPD, CAL, GRH, or RW, the worse the clinical outcomes. A similar relationship was found for the GT (OR = 0.550, *p* = 0.048) and the opposite for the KTW (OR = 1.644, *p* = 0.028). For the KTW gain and GT gain,

only one significantly negative prognostic factor was determined, the RW (OR = 0.477, $p = 0.028$) and the GT (OR = 0.072, $p < 0.001$) at baseline, respectively. In the context of the RES, it was found that the HA application significantly improved the 12-month clinical outcomes by nearly 2.5 times (OR = 2.477, $p = 0.001$). In this respect, both canines and molars demonstrated significantly worse effects compared to incisors. Again, a higher RW suggested significantly worse outcomes (OR = 0.813, $p = 0.021$), while a higher KTW was associated with better outcomes (OR = 1.353, $p = 0.008$).

Table 4. Significant predictors in univariate logistic regression modelling.

Treatment Outcome	Predictor	Category or Unit	OR [95% CI]	<i>p</i>
MRC 85%	Tooth type	incisor	reference	
		canine	0.313 [0.028–3.565]	0.350
		premolar	0.597 [0.053–6.730]	0.676
		molar	0.031 [0.004–0.249]	0.001
	PPD	1 mm	0.378 [0.160–0.893]	0.027
	CAL	1 mm	0.348 [0.199–0.609]	<0.0001
	GRH	1 mm	0.569 [0.380–0.852]	0.006
	RW	1 mm	0.458 [0.335–0.626]	<0.0001
	KTW	1 mm	1.644 [1.054–2.565]	0.028
	GT	1 mm	0.550 [0.304–0.995]	0.048
CRC	Tooth type	incisor	reference	
		canine	0.313 [0.028–3.565]	0.350
		premolar	0.597 [0.053–6.730]	0.676
		molar	0.031 [0.004–0.249]	0.001
	PPD	1 mm	0.378 [0.160–0.893]	0.027
	CAL	1 mm	0.348 [0.199–0.609]	<0.001
	GRH	1 mm	0.569 [0.380–0.852]	0.006
	RW	1 mm	0.458 [0.335–0.626]	<0.001
	KTW	1 mm	1.644 [1.054–2.565]	0.028
	GT	1 mm	0.550 [0.304–0.995]	0.048
RES	HA	no	reference	
		yes	2.477 [1.433–4.282]	0.001
	Tooth type	incisor	reference	
		canine	0.347 [0.158–0.765]	0.009
		premolar	1.210 [0.589–2.486]	0.603
		molar	0.341 [0.151–0.768]	0.009
	RW	1 mm	0.813 [0.682–0.969]	0.021
	KTW	1 mm	1.353 [1.081–1.693]	0.008
	KTW gain	1 mm	0.447 [0.201]	0.048
	GT gain	1 mm	0.072 [0.019–0.275]	<0.0001

CAL—clinical attachment level; CI—confidence interval; CRC—complete root coverage; GRH—gingival recession height; GT—gingival thickness; HA—hyaluronic acid; KTW—keratinized tissue width; MRC—mean root coverage; OR—odds ratio; PPD—probing pocket depth; RES—root coverage esthetic score; RW—recession width; SCTG—subepithelial connective tissue graft.

In multivariate logistic regression modelling, stepwise forward models for four parameters (MRC, GT gain, RES, and CRC) with a very good quality of fit were obtained (Table 5). Again, the results for the MRC and CRC turned out to be identical. The prognosis in terms of these parameters allowed for the best assessment of a set of periodontal variables, including the CAL, KTW, and tooth type. In the case of the GT gain, in addition to the baseline GT, the PPD was included in the model. With respect to the RES, the positive 12-month clinical outcomes were influenced by both the type of tooth (incisor or premolar) and the application of HA and a higher baseline KTW.

Additionally, a multidimensional correspondence analysis for the RES was carried out, as this was the only parameter for which the HA application was a significant predictor. Decisions on the number of MCA dimensions were made based on the scree plot. This analysis confirmed that an HA application was associated with a better 12-month RES. Also, the maxillary premolars seemed to be characterized by improved clinical outcomes (Figure 3). Detailed point parameters are reported in Table 6.

Table 5. Multivariate models based on stepwise forward logistic regression.

Model	Treatment Outcome	Goodness of Fit (<i>p</i> -Value for Hosmer–Lemeshow)	Predictor	Category or Unit	OR [95% CI]	<i>p</i>
Model I	MRC 85%	0.618	Tooth type	incisor	reference	0.652
				canine	0.560 [0.045–6.968]	0.977
				premolar	0.964 [0.080–11.568]	0.005
				molar	0.046 [0.005–0.389]	
			CAL	1 mm	0.396 [0.202–0.776]	0.007
Model II	CRC	0.618	Tooth type	incisor	reference	0.652
				canine	0.560 [0.045–6.968]	0.977
				premolar	0.964 [0.080–11.568]	0.005
				molar	0.046 [0.005–0.389]	
			CAL	1 mm	0.396 [0.202–0.776]	0.007
Model III	RES	0.743	HA	no	reference	0.001
				yes	2.683 [1.495–4.814]	
			Tooth type	incisor	reference	0.035
				canine	0.402 [0.173–0.936]	0.257
				premolar	1.570 [0.720–3.425]	0.025
Model IV	GT gain	0.239	KWT	1 mm	1.378 [1.070–1.776]	0.013
				1 mm	0.055 [0.013–0.231]	<0.0001
			PPD	1 mm	3.271 [1.318–8.119]	0.011

CAL—clinical attachment level; CI—confidence interval; CRC—complete root coverage; GRH—gingival recession height; GT—gingival thickness; HA—hyaluronic acid; KWT—keratinized tissue width; MRC—mean root coverage; OR—odds ratio; PPD—probing pocket depth; RES—root coverage esthetic score; RW—recession width; SCTG—subepithelial connective tissue graft.

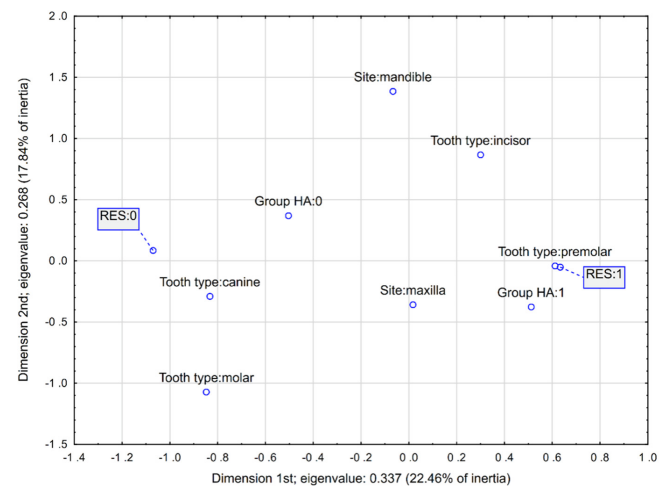


Figure 3. Multidimensional correspondence analysis for 12-month RES and potential qualitative predictors (Burt's table, 10 × 10).

Table 6. Detailed parameters of determined points in multidimensional correspondence analysis for 12-month RES and potential qualitative predictors.

	x	y	Quality	Relative Inertia	x Inertia	x cos ²	y Inertia	y cos ²
Group: SCTG + HA	−0.503	0.370	0.397	0.083	0.095	0.258	0.065	0.139
Group: SCTG	0.512	−0.377	0.397	0.084	0.097	0.258	0.066	0.139
Tooth type: incisor	0.300	0.867	0.345	0.118	0.019	0.037	0.204	0.308
Tooth type: canine	−0.833	−0.289	0.180	0.135	0.097	0.161	0.015	0.019
Tooth type: premolar	0.612	−0.042	0.203	0.108	0.097	0.202	0.001	0.001
Tooth type: molar	−0.848	−1.071	0.385	0.138	0.091	0.148	0.183	0.237
Site: maxilla	0.017	−0.358	0.496	0.034	0.0001	0.001	0.095	0.495
Site: mandible	−0.066	1.385	0.496	0.132	0.001	0.001	0.368	0.495
RES: 0	−1.070	0.085	0.682	0.105	0.316	0.678	0.003	0.004
RES: 1	0.633	−0.050	0.682	0.062	0.187	0.678	0.001	0.004

HA—hyaluronic acid; RES—root coverage esthetic score; SCTG—subepithelial connective tissue graft.

4. Discussion

The present RCT compared the 12-month clinical outcomes after the treatment of multiple RT1 and RT2 recessions using an MCAT with cross-linked HA (tests) or without (controls). Both treatments generated comparable clinical and esthetic results. The only statistical difference between the groups was found in the soft tissue surface characteristics, which was in favor of the test group. Customized regression models indicated that an HA application, the tooth type, the baseline CAL, and the baseline KTW were the strongest predictors for obtaining an MRC > 85%, achieving CRC, and gaining a perfect RES. To the best of our knowledge, this is the first RCT to report feasible preoperative predictors of the clinical outcomes after a surgical treatment of multiple GRs with an MCAT and HA.

The predictive impact of baseline site-related anatomical factors on the outcomes of root coverage surgery have been investigated in numerous studies. It is well documented that the larger the baseline GR height and width, the less likely CRC will be achieved [31–34]. CRC was more often observed at sites with a baseline recession depth of ≤ 2.5 mm [6]. In another study, the baseline mid-buccal CAL was significantly associated with the 12-month MRC, CRC, and RES [32]. With each 1 mm increase in the baseline CAL, the chances of positive outcomes decreased 0.32-fold in terms of the MRC, 1.29-fold for gaining CRC, and 3.42-fold for achieving a perfect RES. Our results are compatible with these findings, as the baseline CAL values were a significant negative prognostic factor for the value of the MRC.

It has previously been reported that tooth position influences the MRC and CRC [30]. Canines and incisors have been reported to achieve better outcomes compared to premolars and molars [22,35]. Moreover, maxillary teeth achieved a higher root coverage than mandibular teeth [6,36,37]. Differences in anatomical characteristics, including bigger papillae in the upper arch, the presence of lip muscles, and a minor vestibular depth in the lower arch were used to explain the abovementioned observations. The present multilevel model analysis demonstrated that tooth type might be a significant prognostic factor for the MRC, CRC, and the RES. The highest MRC and CRC were achieved for the incisors, whereas the premolars were associated with optimal RES values. The molars had the highest odds of 12-month failure. On the other hand, the present study revealed no significant effect of tooth position (upper versus lower arch) on the treatment outcomes. Our outcomes are consistent with the findings of a very recent meta-analysis in which the overall MRC of the tunnel technique for multiple maxillary GR defects was $88.63 \pm 7.08\%$, while the ARC for multiple mandibular GR defects was $85.88 \pm 27.77\%$ [6]. This observation may be explained, at least in part, by the characteristics of the SCTG that was used. The extraoral de-epithelialization of free gingival grafts allows connective tissue to be harvested directly from under the epithelium, which is stable and of optimal biological potential [28].

It goes without saying that tooth location should always be evaluated together with site-specific parameters, such as the KTW and GT. The mean KTW and GT values at

baseline were previously correlated with statistically significant positive effects on the MRC ($p = 0.004$ and $p = 0.013$, respectively) after a multiple GR treatment with the MCAT [34]. In other studies, the KTW was pinpointed as the main factor in obtaining root coverage with an MCAT, and the accepted consensus is that a KTW of about 2 mm is desirable [38–40]. The baseline GT value was a significantly positive prognostic factor for the MRC after an MCAT + SCTG [34,41]. The required minimum mean soft tissue thickness to achieve CRC increased from 1.44 mm (12 months) to 1.61 mm (24 months) [41]. With each 1 mm increase in the baseline GT, the probability of achieving CRC increased tenfold [32]. Consequently, by integrating the KTW and the gingival thickness, clinical guidance was enhanced [27,39]. In the present study, the baseline KTW, but not the GT, independently predicted the 12-month MRC and CRC. Our results support the statement that graft material might play a crucial role in terms of the clinical outcomes, as an SCTG was placed in all the treated recessions independently of the KTW or GT values. It was suggested by Cairo [42] that a graft behaves as a biological filler under the surgical flap, hence decreasing postoperative shrinkage and improving the recession treatment outcomes.

The final soft tissue quality coupled with the esthetic results may be considered the most important treatment goal of root coverage procedures. Apart from CRC, other factors related to natural soft tissue appearance play a crucial role in the final esthetics. While 60% of the RES value is due to CRC, the remaining 40% is determined by the marginal soft tissue contour, the soft tissue texture, the presence of keloids, the gingival color, and the muco-gingival junction alignment. In the present study, both groups achieved favorable esthetic outcomes, which is in line with data from previously published studies and the conclusions of recent systematic reviews and meta-analyses [6,7]. It is also noteworthy that the test sides were found to achieve a better soft tissue texture. Furthermore, the multilevel regression and multidimensional correspondence analyses revealed that the additional application of HA increased the likelihood of a perfect RES by more than twofold. The variance in this parameter could be related to the regenerative properties of HA on cells involved in soft tissue wound healing. On the histological level, HA promoted a moderate increase in collagen fiber density and a significant improvement in the elastic fiber network in biopsy samples taken from the sides treated with an SCTG + HA when compared to the sides treated only with an SCTG [23]. It was also reported that the use of HA might reduce soft tissue scarring. Asparuhova et al. [43] demonstrated that HA enhanced the expression of genes encoding type III collagen and transforming growth factor- β 3, characteristic of scarless wound healing. At the final phase of the healing process, HA interacts with CD44 and a receptor for HA-mediated motility (RAHMM) to promote the maturation of collagens (type I) for extracellular matrix remodeling [44]. However, the reasons for this finding are open to speculation. According to some recent studies, the site-specific application of an SCTG was suggested to further enhance the esthetic outcome. Even though SCTG procedures showed the highest overall esthetic performance for root coverage, the graft integration may impede the natural soft tissue color and appearance [7]. By the same token, an SCTG should be selectively positioned under the surgical flap in sites presenting with a thin phenotype or a reduced band of KTW < 2 mm [39,40]. It has been speculated that the addition of a graft in the presence of a thick gingiva may result in a bulky appearance of the soft tissues.

Even though this RCT evaluated only local risk predictors, systemic and environmental factors such as age, gender, and tobacco consumption have been previously associated with the extent of gingival recessions [45]. GRs occur in populations with both high and low standards of oral hygiene [46]. Males used to have more GRs than females, but gender was not significant risk indicator in all the evaluated populations [45–48]. These discrepancies may be related to methodological differences between studies, as different variables were included in the multivariate analysis. All in all, men had worse oral hygiene habits, and were more likely to ignore their oral health and engage in preventive dental care less often than women [49]. Women, on the other hand, exhibited a higher oral health literacy, better oral health behaviors, more positive attitudes, and a greater adherence to dental

treatment [50]. Consequently, gender-related factors might influence treatment planning and patient management in clinical practice.

Within the limitations of the present investigation, it should be mentioned that only a single formulation of HA was used, thus creating methodological bias. Furthermore, the recruitment of patients with multiple and symmetrical GRs may have led to selection bias. RT3 recessions were not included in this study, as these defects do not show predictable root coverage [3]. Third, as all the surgeries were performed by a single, trained clinician, external validity was probably limited. Last, but not least, the sample size was based on the only available clinical trial at the time, but with a different surgical modality [24]. Despite the limitations cited above, this is the first RCT to assess the surgical treatment of multiple GRs using an MCAT in combination with HA and an SCTG; thus, no direct comparisons with other studies were feasible. The strengths of this study include the approaches used to maintain scientific rigor by following the CONSORT guidelines. The data were collected by calibrated and blinded examiners, and all the surgeries were performed by one experienced surgeon. The final sample size amounted to 24 patients and 266 GRs. Taking into account the statistically significant effect size, the findings of this RCT can be considered solid. In addition to the main purpose of this study, it would be interesting to follow these patients and evaluate the long-term outcomes. Nevertheless, to draw more definitive conclusions and extend the findings of the present RCT, further research projects and evidence are required. Future research should focus on optimizing the doses and delivery methods to optimize the therapeutic potential of HA. Given the technical challenges inherent to the procedure, the results need to be confirmed on a wider basis.

5. Conclusions

Within its limitations, this study demonstrated that the use of HA in addition to an MCAT + SCTG for the soft tissue augmentation of multiple RT1 and RT2 recessions improved the 12-month esthetic outcomes. The baseline CAL, the KTW, and the tooth type predicted the 12-month MRC, CRC, and RES. An assessment of preoperative factors might help clinicians in the decision-making process for multiple GR treatments.

Author Contributions: Conceptualization, B.G. and I.M.S.; methodology, B.G.; software, K.N.; validation, B.G., I.M.S., and A.B.; formal analysis, K.N.; investigation, I.M.S.; data curation, I.M.S.; writing, B.G. and A.B.; visualization, I.M.S.; supervision, B.G.; project administration, I.M.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee of the Medical University of Warsaw (approval No. KB/119/2021).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all the subjects involved in this study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available from the corresponding author upon request.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Wennström, J.L. Mucogingival therapy. *Ann. Periodontol.* **1996**, *1*, 671–701. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
2. Albandar, J.M.; Kingman, A. Gingival recession, gingival bleeding, and dental calculus in adults 30 years of age and older in the United States, 1988–1994. *J. Periodontol.* **1999**, *70*, 30–43. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Cairo, F.; Nieri, M.; Cincinelli, S.; Mervelt, J.; Pagliaro, U. The inter-proximal clinical attachment level to classify gingival recessions and predict root coverage outcomes: An explorative and reliability study. *J. Clin. Periodontol.* **2011**, *38*, 661–666. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Zucchelli, G.; Mounssif, I. Periodontal plastic surgery. *Periodontol.* **2000** **2015**, *68*, 333–368. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
5. Chambrone, L.; Botelho, J.; Machado, V.; Mascarenhas, P.; Mendes, J.J.; Avila-Ortiz, G. Does the subepithelial connective tissue graft in conjunction with a coronally advanced flap remain as the gold standard therapy for the treatment of single gingival recession defects? A systematic review and network meta-analysis. *J. Periodontol.* **2022**, *93*, 1336–1352. [\[CrossRef\]](#)

6. Tavelli, L.; Barootchi, S.; Nguyen, T.V.N.; Tattan, M.; Ravidà, A.; Wang, H.L. Efficacy of tunnel technique in the treatment of localized and multiple gingival recessions: A systematic review and meta-analysis. *J. Periodontol.* **2018**, *89*, 1075–1090. [\[CrossRef\]](#)
7. Cairo, F.; Barootchi, S.; Tavelli, L.; Barbato, L.; Wang, H.L.; Rasperini, C.; Graziani, F.; Tonetti, M. Aesthetic- and patient-related outcomes following root coverage procedures: A systematic review and network meta-analysis. *J. Clin. Periodontol.* **2020**, *47*, 1403–1415. [\[CrossRef\]](#)
8. Gobatto, L.; Nart, J.; Bressan, E.; Mazzocco, F.; Paniz, G.; Lops, D. Patient morbidity and root coverage outcomes after the application of a subepithelial connective tissue graft in combination with a coronally advanced flap or via a tunneling technique: A randomized controlled clinical trial. *Clin. Oral Investig.* **2016**, *20*, 2191–2202. [\[CrossRef\]](#)
9. Aroca, S.; Molnár, B.; Windisch, P.; Gera, I.; Salvi, G.E.; Nikolidakis, D.; Sculean, A. Treatment of multiple adjacent Miller class I and II gingival recessions with a modified coronally advanced tunnel (MCAT) technique and a collagen matrix or palatal connective tissue graft: A randomized, controlled clinical trial. *J. Clin. Periodontol.* **2013**, *40*, 713–720. [\[CrossRef\]](#)
10. Azaripour, A.; Kissinger, M.; Farina, V.S.; Van Noorden, C.J.; Gerhold-Ay, A.; Willershausen, B.; Cortellini, P. Root coverage with connective tissue graft associated with coronally advanced flap or tunnel technique: A randomized, double-blind, mono-centre clinical trial. *J. Clin. Periodontol.* **2016**, *43*, 1142–1150. [\[CrossRef\]](#)
11. Mayta-Tovalino, F.; Barboza, J.J.; Pasupuleti, V.; Hernandez, A.V. Efficacy of Tunnel Technique (TUN) versus Coronally Advanced Flap (CAF) in the Management of Multiple Gingival Recession Defects: A Meta-Analysis. *Int. J. Dent.* **2023**, *2023*, 8671484. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Ozenci, I.; Ipci, S.D.; Cakar, G.; Yilmaz, S. Tunnel technique versus coronally advanced flap with acellular dermal matrix graft in the treatment of multiple gingival recessions. *J. Clin. Periodontol.* **2015**, *42*, 1135–1142. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Cieślak-Wegemund, M.; Wierucka-Młynarczyk, B.; Tanasiewicz, M.; Gilowski, Ł. Tunnel technique with collagen matrix compared with connective tissue graft for treatment of periodontal recession: A randomized clinical trial. *J. Periodontol.* **2016**, *87*, 1436–1443. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Górski, B.; Górski, R.; Wysokińska-Miszczyk, J.; Kaczyński, T. Tunnel technique with enamel matrix derivative in addition to subepithelial connective tissue graft compared with connective tissue graft alone for the treatment of multiple gingival recessions: A randomized clinical trial. *Clin. Oral Investig.* **2020**, *24*, 4475–4486. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Korkmaz, B.; Balli, U. Clinical evaluation of the treatment of multiple gingival recessions with connective tissue graft or concentrated growth factor using tunnel technique: A randomized controlled clinical trial. *Clin. Oral Investig.* **2021**, *25*, 6347–6356. [\[CrossRef\]](#)
16. Ferguson, E.L.; Roberts, J.L.; Moseley, R.; Griffiths, P.C.; Thomas, D.W. Evaluation of the physical and biological properties of hyaluronan and hyaluronan fragments. *Int. J. Pharm.* **2011**, *420*, 84–92. [\[CrossRef\]](#)
17. Tavianatou, A.G.; Caon, I.; Franchi, M.; Piperigkoum, Z.; Galesso, D.; Karamanos, N.K. Hyaluronan: Molecular size-dependent signaling and biological functions in inflammation and cancer. *FEBS J.* **2023**, *286*, 2883–2908. [\[CrossRef\]](#)
18. Iaconis, G.N.; Lunetti, P.; Gallo, N.; Cappello, A.R.; Fiermonte, G.; Dolce, V.; Capobianco, L. Hyaluronic Acid: A powerful biomolecule with wide-ranging applications—A comprehensive review. *Int. Mol. J. Sci.* **2023**, *24*, 10296. [\[CrossRef\]](#)
19. Manfredini, M.; Beretta, M.; Maiorana, C.; Tandurella, M.; Federica, E.S.; Poli, P.P. Effectiveness of adjunctive hyaluronic acid application in surgical treatment of gingival recession sites. *Prosthesis* **2023**, *5*, 635–646. [\[CrossRef\]](#)
20. Oates, T.W.; Robinson, M.; Gunsolley, J.C. Surgical therapies for treatment of gingival recession. A systematic review. *Ann. Periodontol.* **2003**, *8*, 303–320. [\[CrossRef\]](#)
21. De Sanctis, M.; Clementini, M. Flap approaches in plastic periodontal and implant surgery: Critical elements in design and execution. *J. Clin. Periodontol.* **2014**, *41* (Suppl. S15), 108–122. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Tonetti, M.S.; Jepsen, S. Clinical efficacy of periodontal plastic surgery procedures: Consensus Report of Group 2 of the 10th European Workshop on Periodontology. *J. Clin. Periodontol.* **2014**, *41* (Suppl. S15), S36–S43. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Skierska, I.; Górski, B.; Fus, Ł. Tunnel technique and subepithelial connective tissue graft, with or without cross-linked hyaluronic acid, in the treatment of multiple gingival recessions: 12-month outcomes of a randomized clinical trial. *J. Periodontol.* **2024**. Epub ahead of print. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Nandanwar, J.; Bhongade, M.L.; Puri, S.; Dhadse, P.; Datir, M.; Kasatwar, A. Comparison of effectiveness of hyaluronic acid in combination with polylactic acid/polyglycolic acid membrane and subepithelial connective tissue graft for the treatment of multiple gingival recession defects in human: A clinical study. *J. Datta Meghe Inst. Med. Sci. Univ.* **2018**, *13*, 48–53. [\[CrossRef\]](#)
25. Chambrone, L.; Tatakis, D.N. Periodontal soft tissue root coverage procedures: A systematic review from the AAP Regeneration Workshop. *J. Periodontol.* **2015**, *86* (Suppl. S2), S8–S51. [\[CrossRef\]](#)
26. Pilloni, A.; Schmidlin, P.R.; Sahrman, P.; Sculean, A.; Rojas, M.A. Effectiveness of adjunctive hyaluronic acid application in coronally advanced flap in Miller class I single gingival recession sites: A randomized controlled clinical trial. *Clin. Oral Investig.* **2019**, *23*, 1133–1141. [\[CrossRef\]](#)
27. Sculean, A.; Cosgarea, R.; Stähli, A.; Katsaros, C.; Arweiler, N.B.; Miron, R.J.; Deppe, H. Treatment of multiple adjacent maxillary Miller Class I, II, and III gingival recessions with the modified coronally advanced tunnel, enamel matrix derivative, and subepithelial connective tissue graft: A report of 12 cases. *Quintessence Int.* **2016**, *47*, 653–659. [\[CrossRef\]](#)
28. Zucchelli, G.; Mele, M.; Stefanini, M.; Mazzotti, C.; Marzadori, M.; Montebugnoli, L.; de Sanctis, M. Patient morbidity and root coverage outcome after subepithelial connective tissue and de-epithelialized grafts: A comparative randomized-controlled clinical trial. *J. Clin. Periodontol.* **2010**, *37*, 728–738. [\[CrossRef\]](#)

29. Lanzrein, C.; Guldener, K.; Imber, J.C.; Katsaros, C.; Stähli, A.; Sculean, A. Treatment of multiple adjacent recessions with the modified coronally advanced tunnel or laterally closed tunnel in conjunction with cross-linked hyaluronic acid and subepithelial connective tissue graft: A report of 15 cases. *Quintessence Int.* **2020**, *51*, 710–719. [\[CrossRef\]](#)
30. Giorgetti, A.P.O.; Matos, R.; Casarin, R.C.V.; Pimentel, S.P.; Cirano, F.R.; Ribeiro, F.V. Preemptive and Postoperative Medication Protocols for Root Coverage Combined with Connective Tissue Graft. *Braz. Dent. J.* **2018**, *29*, 23–29. [\[CrossRef\]](#)
31. Cairo, F.; Rotundo, R.; Miller, P.D.; Pini Prato, G.P. Root coverage esthetic score: A system to evaluate the esthetic outcome of the treatment of gingival recession through evaluation of clinical cases. *J. Periodontol.* **2009**, *80*, 705–710. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Górski, B.; Górka, R.; Szerszeń, M.; Kaczyński, T. Modified coronally advanced tunnel technique with enamel matrix derivative in addition to subepithelial connective tissue graft compared with connective tissue graft alone for the treatment of multiple gingival recessions: Prognostic parameters for clinical treatment outcomes. *Clin. Oral Investig.* **2022**, *26*, 673–688. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Xue, F.; Zhang, R.; Liu, J.; Duan, J.; Zhang, Y.; Cai, Y. Digitally measured exposed root surface area for predicting the effectiveness of modified coronally advanced tunnel combined de-epithelialized gingival grafting in the treatment of multiple adjacent gingival recessions. *Clin. Oral Investig.* **2023**, *27*, 4503–4512. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Bakhishov, H.; Isler, S.C.; Bozyel, B.; Yıldırım, B.; Tekindal, M.A.; Ozdemir, B. De-epithelialized gingival graft versus subepithelial connective tissue graft in the treatment of multiple adjacent gingival recessions using the tunnel technique: 1-year results of a randomized clinical trial. *J. Clin. Periodontol.* **2021**, *48*, 970–983. [\[CrossRef\]](#)
35. Zucchelli, G.; Tavelli, L.; Ravidà, A.; Stefanini, M.; Suárez-López Del Amo, F.; Wang, H.L. Influence of tooth location on coronally advanced flap procedures for root coverage. *J. Periodontol.* **2018**, *89*, 1428–1441. [\[CrossRef\]](#)
36. Aroca, S.; Barbier, A.; Clementini, M.; Renouard, F.; de Sanctis, M. Treatment of class III multiple gingival recessions: Prognostic factors for achieving a complete root coverage. *J. Clin. Periodontol.* **2018**, *45*, 861–868. [\[CrossRef\]](#)
37. Pietruska, M.; Skurska, A.; Podlewski, L.; Milewski, R.; Pietruski, J. Clinical evaluation of Miller class I and II recessions treatment with the use of modified coronally advanced tunnel technique with either collagen matrix or subepithelial connective tissue graft: A randomized clinical study. *J. Clin. Periodontol.* **2018**, *46*, 86–95. [\[CrossRef\]](#)
38. Kim, D.M.; Neiva, R. Periodontal soft tissue non-root coverage procedures: A systematic review from the AAP Regeneration Workshop. *J. Periodontol.* **2015**, *86* (Suppl. S2), S56–S72. [\[CrossRef\]](#)
39. Rasperini, G.; Codari, M.; Limioli, E.; Acunzo, R.; Tavelli, L.; Levickiene, A.Z. Graftless Tunnel Technique for the Treatment of Multiple Gingival Recessions in Sites with Thick or Very Thick Biotype: A Prospective Case Series. *Int. J. Periodontics Restor. Dent.* **2019**, *39*, e203–e210. [\[CrossRef\]](#)
40. Aroca, S.; Di Domenico, G.L.; Darnaud, C.; de Sanctis, M. Modified Coronally Advanced Tunnel Technique with Site-Specific Application of Connective Tissue Graft for the Treatment of Multiple Adjacent Maxillary Gingival Recessions: A Case Series. *Int. J. Periodontics Restor. Dent.* **2021**, *41*, 253–259. [\[CrossRef\]](#)
41. Zuhr, O.; Rebele, S.F.; Vach, K.; Petsos, H.; Hürzeler, M.B.; Research Group for Oral Soft Tissue Biology & Wound Healing. Tunnel technique with connective tissue graft versus coronally advanced flap with enamel matrix derivative for root coverage: 2-year results of an RCT using 3D digital measuring for volumetric comparison of gingival dimensions. *J. Clin. Periodontol.* **2020**, *47*, 1144–1158. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Cairo, F. Periodontal plastic surgery of gingival recessions at single and multiple teeth. *Periodontol.* **2017**, *75*, 296–316. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Asparuhova, M.B.; Kiryak, D.; Eliezer, M.; Mihov, D.; Sculean, A. Activity of two hyaluronan preparations on primary human oral fibroblasts. *J. Periodontol. Res.* **2019**, *54*, 33–45. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Yang, H.; Song, L.; Zou, Y.; Sun, D.; Wang, L.; Yu, Z.; Guo, J. Role of Hyaluronic Acids and Potential as Regenerative Biomaterials in Wound Healing. *ACS Appl. Bio Mater.* **2021**, *4*, 311–324. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Sarfati, A.; Bourgeois, D.; Katsahian, S.; Mora, F.; Bouchard, P. Risk assessment for buccal gingival recession defects in an adult population. *J. Periodontol.* **2010**, *10*, 1419–1425. [\[CrossRef\]](#)
46. Cortellini, P.; Bissada, N.F. Mucogingival conditions in the natural dentition: Narrative review, case definitions, and diagnostic considerations. *J. Periodontol.* **2018**, *89* (Suppl. S1), S204–S213. [\[CrossRef\]](#)
47. Kassab, M.M.; Cohen, R.E. The etiology and prevalence of gingival recession. *J. Am. Dent. Assoc.* **2003**, *134*, 220–225. [\[CrossRef\]](#)
48. Susin, C.; Haas, A.N.; Oppermann, R.V.; Haugejorden, O.; Albandar, J.M. Gingival recession: Epidemiology and risk indicators in a representative urban Brazilian population. *J. Periodontol.* **2004**, *75*, 1377–1386. [\[CrossRef\]](#)
49. Lipsky, M.S.; Su, S.; Crespo, C.J.; Hung, M. Men and Oral Health: A Review of Sex and Gender Differences. *Am. J. Men's Health* **2021**, *15*, 15579883211016361. [\[CrossRef\]](#)
50. Furuta, M.; Ekuni, D.; Irie, K.; Azuma, T.; Tomofuji, T.; Ogura, T.; Morita, M. Sex differences in gingivitis relate to interaction of oral health behaviors in young people. *J. Periodontol.* **2011**, *82*, 558–565. [\[CrossRef\]](#)

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Izabela Mikołajczak¹
Bartłomiej Górski²
Beata Wyrębek³
Paweł Sawicki⁴

Stomatologia Współczesna:
vol. 29, nr 2, 2022, 32-38

Słowa kluczowe:

mnogie recesje dziąsłowe,
pokrycie recesji, przeszczep
podnabłonkowej tkanki
łącznej, zmodyfikowana
technika tunelowa,
usieczony kwas
hialuronowy

Key words:

multiple gingival recessions,
recession coverage,
subepithelial connective
tissue graft, modified
tunnel technique,
cross-linked hyaluronic acid

¹ lek. dent. Izabela Mikołajczak

² dr hab. n. med. Bartłomiej Górski

³ dr n. med. Beata Wyrębek

⁴ lek. dent. Paweł Sawicki
Z Zakładu Chorób Błony Śluzowej
i Przyzębia Warszawskiego Uniwersytetu
Medycznego – kierownik Zakładu;
dr hab. n. med. Jan Kowalski



Zakład Chorób Błony Śluzowej i Przyzębia
Uniwersyteckie Centrum Stomatologii
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
ul. Binieckiego 6
02-097 Warszawa
tel./faks: 22 116 64 31
e-mail: iza.mikolajczak95@gmail.com

Leczenie mnogich recesji dziąsłowych z zastosowaniem zmodyfikowanej techniki tunelowej z przeszczepem podnabłonkowej tkanki łącznej i kwasu hialuronowego – opis przypadku

Treatment of multiple gingival recessions using a modified tunnel technique with subepithelial connective tissue graft and hyaluronic acid – a case report

Abstract

Nowadays, gingival recessions are a common clinical problem. The exposed root surface can lead to a variety of clinical implications, including aesthetic problems, tooth sensitivity, and carious and non-carious lesions. There are some techniques to cover multiple recessions. Nowadays techniques without vertical incisions are increasingly used (tunnel technique). Recently, hyaluronic acid has also been used in the treatment of gingival recessions due to its healing and regenerative properties. The aim of this study was to present the treatment of multiple gingival recessions in the maxilla and mandible using a modified tunnel technique with a subepithelial connective tissue graft, and cross-linked hyaluronic acid.

Współcześnie recesje dziąsłowe stanowią powszechny problem kliniczny. Odsłonięta powierzchnia korzenia może prowadzić do wystąpienia różnych implikacji klinicznych, takich jak problemy natury estetycznej, nadwrażliwość zębów czy powstawanie ubytków próchnicowego i nie-próchnicowego pochodzenia. Istnieje kilka technik pokrycia mnogich recesji, jednak obecnie coraz częściej wykorzystywane są techniki tunelowe, które pozbawione

są cięć pionowych. Od niedawna w leczeniu recesji dziąsłowych znalazł zastosowanie również kwas hialuronowy, ze względu na swoje właściwości regeneracyjne i przyspieszające gojenie. Celem pracy było przedstawienie leczenia mnogich recesji dziąsłowych w szczęce oraz w żuchwie, za pomocą zmodyfikowanej techniki tunelowej z zastosowaniem przeszczepu podnabłonkowej tkanki łącznej i usieczonego kwasu hialuronowego.

Wstęp

Recesja dziąsła jest definiowana jako dowierzchołkowe przesunięcie brzegu dziąsłowego w stosunku do połączenia szkliwno-cementowego (ang. *cemento-enamel junction*, CEJ) z towarzyszącym odsłonięciem powierzchni korzenia (Wennström 1994). Do najważniejszych czynników etiologicznych powstawania recesji zalicza się uraz mechaniczny zaistniały na skutek nieprawidłowej techniki szczotkowania czy używania szczotki z twardym włosiem (Serino i wsp. 1994) oraz zapalenie przyzębia (Yoneyama i wsp. 1988). Za czynniki ryzyka mogące przyczyniać się do powstawania recesji uważa się cienki fenotyp dziąsła, a także fenestrację czy dehiscencję przedsionkowej blaszki kostnej wyrostka zębodołowego szczęki i części zębodołowej żuchwy (Wennström 1996; Malhotra i wsp. 2014). Ponadto wymienia się: nieprawidłową pozycję zęba w wymiarze przedsionkowo-językowym, a także jatrogenne uzupełnienia zachowawcze i protetyczne (Zucchelli, Mounssif 2015). Leczenie ortodontyczne u pacjentów z cieniem fenotypem może pogłębiać istniejące wcześniej recesje, jeśli zęby będą przemieszczane doprzednio

(ekspansja łuku zębowego) względem kości (Wennström 1996). Odsłonięta powierzchnia korzenia skutkuje pojawianiem się nadwrażliwości zębiny, utrudnioną kontrolą płytki, powstawaniem ubytków pochodzenia próchnicowego i niepróchnicowego, a także występowaniem problemów natury estetycznej, szczególnie w przednim odcinku szczęki (Fukumoto i wsp. 2013; Serino i wsp. 1994; American Academy of Periodontology 1992; Zucchelli, Mounssif 2015). Technika z wyboru w leczeniu mnogich recesji dziąsłowych jest technika tunelowa ze względu na dobre wyniki estetyczne oraz możliwość gojenia pierwotnego (Aroca i wsp. 2021). Dodatkowe zastosowanie usieciowanego kwasu hialuronowego (ang. *hyaluronic acid*, HA) sprzyja gojeniu i regeneracji tkanek przyzębia (Shirakata i wsp. 2021). W publikacji przedstawiono przypadek pacjentki z mnogimi recesjami w szczęcie i żuchwie, u której przeprowadzono zabiegi augmentacji tkanek miękkich z pokryciem recesji za pomocą zmodyfikowanej techniki tunelowej (ang. *modified coronally advanced tunnel*, MCAT) z wykorzystaniem przeszczepu podnabłonkowej tkanki łącznej (ang. *subepithelial connective tissue graft*, sCTG) i usieciowanego kwasu hialuronowego.

Opis przypadku

30-letnia pacjentka zgłosiła się do Zakładu Chorób Błony Śluzowej i Przyzębia Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego z powodu mnogich recesji dziąsłowych w szczęcie i żuchwie. Na podstawie wywiadu ustalono, że pacjentka była leczona ortodontycznie aparatem stałym 7 lat wcześniej. Przed leczeniem ortodontycznym nie były przeprowadzane zabiegi periodontologiczne. Pacjentka od lat stosowała nieprawidłową urazową technikę szczotkowania zębów (ruchy okrężne). Ponadto zgłaszała nadwrażliwość górnych i dolnych zębów spowodowaną bodźcami termicznymi. Pacjentka nie była zadowolona z estetyki uśmiechu.

W badaniu klinicznym stwierdzono obecność mnogich recesji dziąsłowych w szczęcie i żuchwie typu RT1 i RT2 wg Cairo i klasy I i III wg Millera oraz cienki fenotyp dziąsła. Wyniki pomiarów periodontologicznych przedstawiono w tabeli I. W obrębie zębów 14, 13, 23, 24 widoczne były ubytki niepróchnicowego pochodzenia (ang. *non caries cervical lesion*, NCCL). Na korzeniach zębów 31, 41 widoczne były stare, nieszczełne wypełnienia zachowawcze klasy V wg Blacka. Stan kliniczny wyjściowy przedstawiono na fotografiach wewnątrzustnych (ryc. 1).

Po przeprowadzonym wywiadzie i badaniu, za przyczyny powstania recesji uznano ortodontyczną ekspansję górnego i dolnego łuku zębowego oraz nieprawidłowe nawyki higieniczne pacjentki. Wdrożono leczenie przyczynowe, które obejmowało instruktaż prawidłowej techniki szczotkowania (technika roll). Ze względów estetycznych oraz medycznych (zgłaszane przez pacjentkę dolegliwości związane z nadwrażliwością zębów) zdecydowano o przeprowadzeniu chirurgicznego leczenia recesji dziąsłowych za pomocą MCAT i sCTG w szczęcie. Ze względu na trudne warunki w żuchwie (głębokie recesje, cienki fenotyp, wąska strefa tkanek skeratynizowanych) zaplano-



Ryc. 1. Stan przed zabiegiem. Widoczne mnogie recesje dziąsłowe w szczęcie i żuchwie, cienki fenotyp dziąsła. Przy zębach 14, 13, 23, 24 widoczne NCCL. Przy zębach 31, 41 wysokość recesji wynosi 4 mm.

Fig.1. Pre-treatment status. Multiple gingival recessions in maxilla and mandible, thin biotype. Teeth 14, 13, 23, 24 with NCCL. Near teeth 31, 41 recession depth is 4 mm.

Tab. I. Wyniki pomiarów od strony policzkowej przed leczeniem – wysokość/szerokość recesji (REC), szerokość strefy dziąsła zrogowaciałego (KG), grubość strefy dziąsła zrogowaciałego (GT), głębokość kieszonek (PD).

	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26
REC	3/7	1,5/3	2,5/3	4/5	1,5/3	1/4	1/4	1/3	3/4	1,5/3	1/3	3/6
KG	2	1	2	2	3	4	3	3	2	1	2	2
GT	1,92	1,77	1,62	1,43	1,23	1,35	1,05	0,86	1,12	2,03	1,94	2,42
PD	3 2 3 3 2 3 2 2 2 2 3 3 1 2 2 2 3 3 2 2 1 3 3 2 2 2 2 3 2 2 3 1 3											
	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36
REC	1/7	2/4	2/3	2/5	3/2	4/3	4/3	1/2	1/3	1/4	1/4	1/7
KG	3	2	3	2	2	1	1	2	2	1	2	3
GT	3,56	2,19	1,30	0,81	0,83	0,99	0,88	0,91	0,93	1,22	1,75	2,76
PD	3 1 3 3 1 3 2 1 3 3 2 3 4 1 3 3 2 3 3 2 3 3 1 3 3 1 3 3 1 3 3 2 1 3 3 2 3											



Ryc. 2. Stan po wykonaniu wypełnień kompozytem nanohybrydowym w zębach 14, 13, 23, 24 (klasy V wg Blacka). Widoczny zdefiniowany CEJ, który wcześniej został utracony przez NCCL. Fig. 2. Status after nanohybrid composite restorations in teeth 14, 13, 23, 24 (Black's classification V). Visible defined CEJ which was previously lost by NCCL.



Ryc. 3. Stan po zabiegu w szczęcie. Przeszczep wprowadzony w wypreparowany tunel, widoczny przesunięty płat dokoronowo ustalony pojedynczymi szwami pętlowymi. Fig. 3. Postoperative status in the maxilla. Graft inserted into the dissected tunnel, coronally advanced flap stabilized with single sling-sutures.

wano przeprowadzenie zmodyfikowanej techniki tunelowej, a w obrębie zębów 31, 41 tunel zamknięty bocznie (ang. *laterally closed tunnel*, LTC) oraz zastosowanie usieciowanego kwasu hialuronowego.

W pierwszej kolejności zaplanowano odbudowę NCCL na zębach 14, 13, 23, 24 za pomocą nanohybrydowego materiału kompozytowego, aby zdefiniować położenie przyszłego CEJ. Odbudowa nie obejmowała całej odsłoniętej powierzchni korzeni. Sytuacja kliniczna 7 dni po wykonaniu wypełnień w zębach 14, 13, 23, 24 – ryc. 2.

Po upływie 2 tygodni od wykonania odbudowy NCCL przeprowadzono leczenie chirurgiczne w szczęcie. W znieczuleniu miejscowym oczyszczono zęby za pomocą narzędzi ręcznych (kirety Gracey), zęby wypolerowano z użyciem 0,2% żelu dwuglukonianu chlorheksydyny (CHX). Następnie wykonano cięcia w obrębie szczelin dziąsłowych zębów 16-26, wypreparowano płat pełnej grubości bocznie i dowierzchołkowo do granicy śluzówkowo-dziąsłowej oraz płat częściowej grubości poza linią śluzówkowo-dziąsłową za pomocą mikroskalpela numer 69 i noży do techniki tunelowej. Brodawki dziąsłowe w ich części policzkowej zostały wypreparowane wraz z okostną. W kolejnym etapie pobrano obustronnie dwa przeszczepy nabłonkowo-łącznotkanowe (ang. *free gingival graft*, FGG).

Następnie dokonano deepitelializacji przeszczepu poza jamą ustną, otrzymując dwa przeszczepy sCTG. Miejsce dawcze zaopatrzone gąbką kolagenową, którą ustabilizowano szwami krzyżowymi podwieszonymi. Dodatkowo podniebienie zostało zabezpieczone indywidualną akrylową płytką podniebienną. Za pomocą szwów pozycjonujących sCTG zostało wprowadzone w wypreparowany tunel i ustabilizowane pojedynczymi szwami pętłowymi podwieszającymi (resorbowalna nić polifilamentowa 6.0 DS-12). Następnie przesunięto zmobilizowany płat dokoronowo i ustabilizowano pojedynczymi szwami pętłowymi podwieszającymi (nieresorbowalna nić monofilamentowa 6.0 DS-12). Stan po zabiegu w szczęcie – ryc. 3.

Po upływie 6 miesięcy przystąpiono do zabiegu pokrycia recesji w żuchwie. Cięcia, preparacja tunelu, pobranie przeszczepu przebiegło analogicznie jak przy zabiegu w szczęcie. Po deepitelializacji, dwa przeszczepy połączono pojedynczym szwem materacowym (resorbowalna nić polifilamentowa 6.0 DS-12) (ryc. 4). Po umieszczeniu przeszczepu w wypreparowany tunel zastosowano kwas hialuronowy (HyaDENT BG, Bio-SCIENCE), który podano pod płat w okolicy zębów 33-43. Po przesunięciu dokoronowym płata, ustabilizowano go pojedynczymi szwami pętłowymi podwieszającymi (nieresorbowalna nić monofilamentowa 6.0 DS-12). W obrębie zębów 31, 41 zastosowano technikę LCT za pomocą pojedynczych szwów węzłkowych. Sytuacja kliniczna po zabiegu w żuchwie – ryc. 5.

Opieka pozabiegowa przez pierwsze 14 dni obejmowała zakaz szczotkowania okolicy zabiegowej, delikatne płukanie jamy ustnej 0,2% roztworem CHX oraz aplikację 1% żelu z CHX 3 razy dziennie. Po 7 dniach stwierdzono prawidłowe gojenie okolicy zabiegowej. Przeprowadzono delikatną higienizację. Po 14 dniach od zabiegu usunięto szwy. Zalecenia obejmowały zakaz szczotkowania przez kolejne 7 dni oraz płu-



Ryc. 4. Stan śródzabiegowy w żuchwie. Przygotowany CTG do wprowadzenia w tunel. Dwa przeszczepy połączono pojedynczym szwem materacowym (resorbowalna nić 6.0 DS-12).
Fig. 4. Intraoperative status in the mandible. Prepared CTG for insertion into the tunnel. Two grafts were connected with a single mattress suture (resorbable 6.0 DS-12 thread).



Ryc. 5. Stan po zabiegu w żuchwie. Płat przesunięty dokoronowo ustabilizowany pojedynczymi szwami pętłowymi. W obrębie zębów 31, 41 LCT za pomocą pojedynczych szwów węzłkowych.
Fig. 5. Postoperative status in the mandible. Coronally advanced flap stabilized with single sling-sutures. Within teeth 31, 41 LCT with single knotted sutures.



Ryc. 6. Stan po 12 miesiącach od zabiegu w szczęcie. Przy zębach 16, 31, 41, 43 uzyskano MRC, przy pozostałych zębach uzyskano CRC. Widoczna zwiększona strefa tkanek skeratynizowanych.
Fig. 6. Status 12 months after treatment. MRC was obtained on teeth 16, 31, 41, 43 CRC was obtained on the remaining teeth. Increased zone of keratinized tissue can be seen.

Tab. II. Wyniki pomiarów od strony policzkowej po leczeniu – wysokość/szerokość recesji (REC), szerokość strefy dziąsła zrogowaciałego (KG), grubość strefy dziąsła zrogowaciałego (GT), głębokość kieszonek (PD).
Tab. II. Measurement results from buccal side after treatment – recession height/width (REC), keratinized gingival zone width (KG), keratinized gingival zone thickness (GT), pocket depth (PD).

	16	15	14	13	12	11	21	22	23	24	25	26
REC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1/5
KG	3	4	4	3	4	3	3	5	3	3	4	3
GT	2,62	2,59	2,23	2,56	2,06	2,63	1,93	2,31	2,69	3,08	2,52	3,20
PD	3 2 3 3 1 3 2 3 3 2 2 3 3 1 3 3 2 3 3 2 2 3 3 3 2 2 2 3 3 2 2 3 1 3											
	46	45	44	43	42	41	31	32	33	34	35	36
REC	0	0	0	0,5/3	0	1/3	1/3	0	0	0	0	0
KG	3	2	3	3	3	2	2	3	3	2	3	3
GT	3,78	3,17	1,45	1,52	1,51	1,62	1,48	1,59	1,61	1,46	1,92	2,96
PD	2 2 2 2 1 2 2 1 2 2 1 2 2 1 2 2 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 1 3											

kanie jamy ustnej 0,2% roztworem CHX. Następnie zalecono używanie ultramiekkiej szczoteczki pozabiegowej przez kolejny miesiąc. Po upływie tego czasu zalecono szczotkowanie zębów przy użyciu miękkiej szczotki techniką roll. Następne kontrole odbywały się w odstępach 1, 3, 6, 12 miesięcy po zabiegu.

Zdjęcia wewnątrzne (ryc. 6) oraz tabela z pomiarami II przedstawiają stabilną sytuację kliniczną rok po zabiegu w szczęcie i 6 miesięcy po zabiegu w żuchwie. Przy zębach 16, 31, 41, 43 uzyskano częściowe pokrycie recesji. Całkowite pokrycie recesji uzyskano przy pozostałych zębach. Na wizycie kontrolnej stwierdzono poprawę w architekturze tkanek miękkich, zarówno w zwiększeniu strefy dziąsła skeratyzowanego, jak i grubości dziąsła (tabela II). Uzyskany rezultat był satysfakcjonujący dla pacjentki.

Dyskusja

Współcześnie istnieje kilka technik chirurgicznego pokrycia recesji dziąsłowych. Złotym standardem w leczeniu chirurgicznym jest technika płata przesuniętego dokoronowo (CAF – *coronally advanced flap*) (Tonetti, Jepsen 2014). Zastosowanie cięć pionowych może jednak skutkować gorszym ukrwieniem płata oraz powstaniem nieestetycznych blizn

w obrębie miejsca operowanego. Z tego względu wielu klinicystów decyduje się na zastosowanie technik bez cięć pionowych – technika CAF z zastosowaniem płata kopertowego (Zucchelli, De Sanctis 2000) lub zmodyfikowana technika tunelowa (Zuhr i wsp. 2007; Azaripour i wsp. 2016).

W przypadku głębokich, izolowanych recesji I, II, III klasy wg Millera w żuchwie opisano metodę tunelu zamkniętego bocznie (ang. *laterally closed tunnel*, LCT). Technika ta polega na wszyciu sCTG w wypreparowany tunel, a następnie zbliżeniu bez napięcia bocznych brzegów tkanek ku sobie i wszyciu ich pojedynczymi szwami węzłkowymi nad przeszczepem (Sculean, Allen 2018). Złożone przypadki kliniczne wymagają często modyfikacji opisanych wcześniej technik. Połączenie zmodyfikowanej techniki tunelowej z LCT może być dobrym rozwiązaniem w leczeniu mnogich, głębokich recesji w dolnym łuku zębowym. Opis leczenia 11 przypadków z mnogimi recesjami RT1 w żuchwie o minimalnej wysokości recesji 3 mm wydaje się potwierdzać słuszność łączenia wyżej wymienionych technik (Sculean i wsp. 2021). Bez względu na preferowaną metodę preparacji okolicy biorecznej, zgodnie z wytycznymi Amerykańskiej Akademii Periodontologicznej, za podstawową metodę uważa się wykorzystanie autogenego wolnego

przeszczepu podnabłonkowej tkanki łącznej. Zastosowanie sCTG pozwala na częstsze uzyskanie całkowitego pokrycia recesji, większych średnich wartości pokrycia recesji oraz stabilności wyników długoterminowych (Chambrone, Tatakis 2015).

Od niedawna w chirurgii rekonstrukcyjnej tkanek miękkich przyzębia znalazł zastosowanie kwas hialuronowy. Wynika to z jego właściwości biologicznych, które sprzyjają gojeniu się ran i regeneracji (King i wsp. 1991; Jiang i wsp. 2007). Wykazano, że HA indukuje angiogenezę, stymuluje tworzenie się skrzepu krwi, a także zwiększa potencjał komórek biorących udział w gojeniu się ran (Mast i wsp. 1992; Price i wsp. 2005; Mast i wsp. 1993; Aya, Stern 2017).

Najnowsze dane z badań przedklinicznych wykazały, że zastosowanie HA może prowadzić do pokrycia korzenia w przypadku pojedynczych recesji dziąsłowych, którym histologicznie towarzyszy regeneracja przyzębia. W badaniu stwierdzono istotne statystycznie różnice w poziomie przyczepu klinicznego i szerokości recesji dziąsłowej na korzyść grupy badanej. Tworzenie kości, formowanie cementu i przyczepu łącznotkankowego było istotnie statystycznie większe w grupie badanej w porównaniu z grupą kontrolną. Prezentowane dane po raz pierwszy dostarczyły histolo-

gicznych dowodów na regenerację periodontologiczną ubytków recesyjnych działań po leczeniu z zastosowaniem CAF i HA (Shirakata i wsp. 2021).

Randomizowane badania kontrolne przeprowadzone przez Pilloni i wsp., w których badano skuteczność zastosowania kwasu hialuronowego w leczeniu pojedynczych recesji dziąsłowych klasy I wg Millera, wykazały statystycznie wyższą redukcję recesji w grupie badanej niż w grupie kontrolnej. Ponadto po 18 miesiącach odnotowano statystycznie wyższe wartości całkowitego pokrycia recesji (CRC – *complete root coverage*) i częściowego pokrycia recesji (MRC – *middle root coverage*) dla grupy testowej w porównaniu z grupą kontrolną. Wykazano statystycznie istotne mniejsze wartości obrzęku i dyskomfortu 7 dni po zabiegu u pacjentów z grupy badanej (Pilloni i wsp. 2019). Na podstawie badania można wnioskować, że użycie HA do chirurgicznego leczenia recesji dziąsłowych może mieć pozytywny wpływ na wyniki leczenia.

Podsumowanie

Powyższy przypadek kliniczny prezentuje możliwość wykorzystania zmodyfikowanej techniki tunelowej w leczeniu mnogich recesji w szczęcie i zuchwie. Biorąc pod uwagę złożoność przypadku w zuchwie (głębokie recesje przy zębach 31, 41, cienki fenotyp dziąsła, wąska strefa tkanek skeratyzowanych), zasadne wydaje się użycie dodatkowo metody LCT oraz wykorzystanie HA. Przed planowaniem leczenia recesji należy zebrać dokładny wywiad z pacjentem, aby poznać przyczyny powstania recesji i dążyć do ich eliminacji.

Piśmiennictwo

Wennström JL. Mucogingival surgery. [w:] Lang NP, Karring T ed. *Proceedings of the 1st European Workshop on Periodontology* 1994; 193-209.

Serino G, Wennström J, Lindhe J i wsp. The prevalence and distribution of gingival recession in subjects with a high standard of oral hygiene. *J Clin Periodontol* 1994; 21: 57-63.

Yoneyama T, Okamoto H, Lindhe J i wsp. Probing depth, attachment loss and gingival recession. Findings from a clinical examination in Ushiku, Japan. *J Clin Periodontol* 1988; 15: 581-591.

Wennström JL. Mucogingival therapy. *Ann Periodontol* 1996; 1: 671-701.

Malhotra R, Grover V, Bhardwaj A i wsp. Analysis of the gingival biotype based on the measurement of the dentopapillary complex. *J Indian Soc Periodontol* 2014; 18, 1: 43-7.

Zucchelli G, Mounssif I. Periodontal Plastic Surgery. *Periodontol* 2000, 2015; 68: 333-368.

Wennström JL. Mucogingival considerations in orthodontic treatment. *Semin Orthod* 1996; 2, 1: 46-54.

Fukumoto Y, Horibe M, Inagaki Y i wsp. Association of gingival recession and other factors with the presence of dentin hypersensitivity. *Odontology* 2013; 102(1): 42-49.

American Academy of Periodontology. Glossary of Periodontal Terms. 3rd ed. American Academy of Periodontology, Chicago 1992.

Aroca S, Di Domenico GL, Darnaud C i wsp. Modified coronally advanced tunnel technique with site specific application of connective tissue graft for the treatment of multiple adjacent maxillary gingival recessions. A case series. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2021, 41(2): 253-259.

Shirakata Y, Nakamura T, Kawakami Y i wsp. Healing of buccal gingival recessions following treatment with coronally advanced flap alone or combined with a cross-linked hyaluronic acid gel. An experimental study in

dogs. *J Clin Periodontol* 2021, 48(4): 570-580.

Tonetti MS, Jepsen S. Clinical efficacy of periodontal plastic surgery procedures: Consensus Report of Group 2 of the 10th European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol* 2014; 41, 15: 36-43.

Zucchelli G, De Sanctis M. Treatment of Multiple Recession-Type Defects in Patients With Esthetic Demands. *J Periodontol* 2000; 71(9), 1506-1514.

Zuhr O, Fickl S, Wachtel H i wsp. Covering of gingival recessions with a modified microsurgical tunnel technique: case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2007; 27: 457-463.

Azaripour A, Kissinger M, Farina VS i wsp. Root coverage with connective tissue graft associated with coronally advanced flap or tunnel technique: randomized, double-blind, mono-centre clinical trial. *J Clin Periodontol* 2016; 43: 1142-1150.

Sculean A, Allen EP. The Laterally Closed Tunnel for the Treatment of Deep Isolated Mandibular Recessions: Surgical Technique and a Report of 24 Cases. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2018; 38(4).

Sculean A, Allen E, Katsaros C i wsp. The combined laterally closed, coronally advanced tunnel for the treatment of mandibular multiple adjacent gingival recessions: surgical technique and a report of 11 cases. *Quintessence Int* 2021; 52(7):576-582.

Chambrone L, Tatakis DN. Periodontal soft tissue root coverage procedures: a systematic review from the AAP Regeneration Workshop. *J Periodontol* 2015; 2, 86, 2: 8-51.

King SR, Hickerson WL, Proctor KG. Beneficial actions of exogenous hyaluronic acid on healing. *Surgery* 1991; 109(1):76-84.

Jiang D, Liang J, Noble PW. Hyaluronan in tissue injury and repair. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2007; 23: 435-61.

Mast BA, Haynes JH, Krummel TM i wsp. In Vivo Degradation of Fetal Wound Hyaluronic Acid Results in Increased Fibroplasia, Collagen Deposition, and Neovascularization. *Plast Reconstr Surg* 1992; 89(3): 503-509.

Price RD, Myers S, Leigh IM i wsp. The Role of Hyaluronic Acid in Wound Healing. *Am J Clin Dermatol* 2005; 6(6): 393-402.

Mast BA, Diegelmann RF, Krummel TM i wsp. Hyaluronic Acid Modulates Proliferation, Collagen and Protein Synthesis of Cultured Fetal Fibroblast. *Matrix* 1993; 13: 441-446.

Aya KL, Stern R. Hyaluronan in wound healing: rediscovering a major player. *Wound Repair Regen* 2014; 22:579-593.

Pilloni A, Schmidlin PR, Sahrman P i wsp. Effectiveness of adjunctive hyaluronic acid application in coronally advanced flap in Miller class I single gingival recession sites: a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Investig* 2019; 23(3):1133-114.

IX. Bibliografia:

1. Wennström JL. Mucogingival therapy. *Ann Periodontol.* 1996;1(1):671-701.
2. Serino G, Wennström JL, Lindhe J, Eneroth L. The prevalence and distribution of gingival recession in subjects with a high standard of oral hygiene. *J Clin Periodontol.* 1994;21(1):57-63.
3. Albandar JM, Kingman A. Gingival recession, gingival bleeding, and dental calculus in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol.* 1999;70(1):30-43.
4. Zucchelli G, Mounssif I. Periodontal plastic surgery. *Periodontol* 2000. 2015;68(1):333-68.
5. Cairo F, Nieri M, Cincinelli S, Mervelt J, Pagliaro U. The interproximal clinical attachment level to classify gingival recessions and predict root coverage outcomes: an explorative and reliability study. *J Clin Periodontol.* 2011;38(7):661-6.
6. Cairo F, Cortellini P, Pilloni A, Nieri M, Cincinelli S, Amunni F, Pagavino G, Tonetti MS. Clinical efficacy of coronally advanced flap with or without connective tissue graft for the treatment of multiple adjacent gingival recessions in the aesthetic area: a randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2016;43(10):849-56.
7. Aroca S, Di Domenico GL, Darnaud C, de Sanctis M. Modified Coronally Advanced Tunnel Technique with Site-Specific Application of Connective Tissue Graft for the Treatment of Multiple Adjacent Maxillary Gingival Recessions: A Case Series. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2021;41(2):253-259.
8. Sculean A, Allen EP, Katsaros C, Stähli A, Miron RJ, Deppe H, Cosgarea R. The combined laterally closed, coronally advanced tunnel for the treatment of mandibular multiple adjacent gingival recessions: surgical technique and a report of 11 cases. *Quintessence Int.* 2021;52(7):576-582.
9. Sculean A, Allen EP. The Laterally Closed Tunnel for the Treatment of Deep Isolated Mandibular Recessions: Surgical Technique and a Report of 24 Cases. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2018;38(4):479-487.
10. Di Domenico GL, Di Martino M, Arrigoni G, Aroca S, de Sanctis M. Multiple coronally advanced flap with a selective use of connective tissue graft: A 3-year prospective clinical and histological study. *J Periodontol.* 2023;94(10):1200-1209.

11. Tavelli L, Barootchi S, Nguyen TVN, Tattan M, Ravid. A, Wang HL. Efficacy of tunnel technique in the treatment of localized and multiple gingival recessions: a systematic review and metaanalysis. *J Periodontol.* 2018;89(9):1075-1090.
12. Cairo F, Barootchi S, Tavelli L, Barbato L, Wang HL, Rasperini G, Graziani F, Tonetti M. Aesthetic-And patient-related outcomes following root coverage procedures: A systematic review and network meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2020;47(11):1403-1415.
13. Ozenci I, Ipci SD, Cakar G, Yilmaz S. Tunnel technique versus coronally advanced flap with acellular dermal matrix graft in the treatment of multiple gingival recessions. *J Clin Periodontol.* 2015;42(12):1135-42.
14. Cieřlik-Wegemund M, Wierucka-Młynarczyk B, Tanasiewicz M, Gilowski Ł. Tunnel Technique With Collagen Matrix Compared With Connective Tissue Graft for Treatment of Periodontal Recession: A Randomized Clinical Trial. *J Periodontol.* 2016;87(12):1436-1443.
15. Górski B, Górski R, Wysokińska-Miszczyk J, Kaczyński T. Tunnel technique with enamel matrix derivative in addition to subepithelial connective tissue graft compared with connective tissue graft alone for the treatment of multiple gingival recessions: a randomized clinical trial. *Clin Oral Investig.* 2020;24(12):4475-4486.
16. Korkmaz B, Balli U. Clinical evaluation of the treatment of multiple gingival recessions with connective tissue graft or concentrated growth factor using tunnel technique: a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Investig.* 2021;25(11):6347-6356.
17. Nandanwar J, Bhongade ML, Puri S, Dhadse P, Datir M, Kasatwar A. Comparison of effectiveness of hyaluronic acid in combination with polylactic acid/polyglycolic acid membrane and subepithelial connective tissue graft for the treatment of multiple gingival recession defects in human: A clinical study. *J. Datta Meghe Inst. Med. Sci. Univ.* 2018;13(1):48–53.
18. Guldener K, Lanzrein C, Eliezer M, Katsaros C, Stähli A, Sculean A. Treatment of single mandibular recessions with the modified coronally advanced tunnel or laterally closed tunnel, hyaluronic acid, and subepithelial connective tissue graft: a report of 12 cases. *Quintessence Int.* 2020;51(6):456-463.
19. Lanzrein C, Guldener K, Imber JC, Katsaros C, Stähli A, Sculean A. Treatment of multiple adjacent recessions with the modified coronally advanced tunnel or laterally

- closed tunnel in conjunction with cross-linked hyaluronic acid and subepithelial connective tissue graft: a report of 15 cases. *Quintessence Int.* 2020;51(9):710-719.
20. Ferguson EL, Roberts JL, Moseley R, Griffiths PC, Thomas DW. Evaluation of the physical and biological properties of hyaluronan and hyaluronan fragments. *Int J Pharm.* 2011;420(1):84-92.
 21. Tavianatou AG, Caon I, Franchi M, Piperigkou Z, Galesso D, Karamanos NK. Hyaluronan: molecular size-dependent signaling and biological functions in inflammation and cancer. *FEBS J.* 2019;286(15):2883-2908.
 22. Pirnazar P, Wolinsky L, Nachnani S, Haake S, Pilloni A, Bernard GW. Bacteriostatic effects of hyaluronic acid. *J Periodontol.* 1999;70(4):370-4.
 23. Fallacara A, Baldini E, Manfredini S, Vertuani S. Hyaluronic Acid in the Third Millennium. *Polymers (Basel).* 2018;10(7):701.
 24. Asparuhova MB, Kiryak D, Eliezer M, Mihov D, Sculean A. Activity of two hyaluronan preparations on primary human oral fibroblasts. *J Periodontal Res.* 2019;54(1):33-45.
 25. Górski B, Skierska I, Szerszeń M, Mańka-Malara K. Tunnel technique with cross-linked hyaluronic acid in addition to subepithelial connective tissue graft, compared with connective tissue graft alone, for the treatment of multiple gingival recessions: 6-month outcomes of a randomized clinical trial. *Clin Oral Investig.* 2023;27(5):2395-2406. *(Reproduced with permission from Springer Nature.)*
 26. Skierska I, Górski B, Fus Ł. Tunnel technique and subepithelial connective tissue graft, with or without cross-linked hyaluronic acid, in the treatment of multiple gingival recessions: 12-month outcomes of a randomized clinical trial. *J Periodontol.* 2024:1-13. DOI: 10.1002/JPER.24-00993 (ahead-of-print) *(Reproduced with permission from John Wiley & Sons.)*
 27. Górski B, Skierska IM, Nijakowski K, Brodzikowska A. Tunnel Technique and Subepithelial Connective Tissue Graft, With or Without Cross-Linked Hyaluronic Acid, in the Treatment of Multiple Gingival Recessions: Prognostic Parameters for Clinical Treatment Outcomes of Randomized Controlled Trial. *J. Clin. Med.* 2024;13(22):6758.
 28. Mikołajczak I, Górski B, Wyrębek B, Sawicki P. Leczenie mnogich recesji dziąsłowych z zastosowaniem zmodyfikowanej techniki tunelowej z przeszczepem podnabłonkowej tkanki łącznej i kwasu hialuronowego- opis przypadku. *Stomatologia Współczesna.*

- 2022;29(2):32-38. (*Powielono za zgodą Stomatologia Współczesna, Med Tour Press International Sp. z o.o.*)
29. O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J Periodontol.* 1972;43(1):38.
 30. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975;25(4):229-35.
 31. Zuhr O, Fickl S, Wachtel H, Bolz W, Hürzeler MB. Covering of gingival recessions with a modified microsurgical tunnel technique: case report. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2007;27(5):457-63.
 32. Zucchelli G, Mele M, Stefanini M, Mazzotti C, Marzadori M, Montebugnoli L, de Sanctis M. Patient morbidity and root coverage outcome after subepithelial connective tissue and de-epithelialized grafts: a comparative randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2010;37(8):728-38.
 33. Cairo F, Rotundo R, Miller PD, Pini Prato GP. Root coverage esthetic score: a system to evaluate the esthetic outcome of the treatment of gingival recession through evaluation of clinical cases. *J Periodontol.* 2009;80(4):705-10.

X. Opinia Komisji Bioetycznej



Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym

Tel.: 022/ 57 - 20 -303

Fax: 022/ 57 - 20 -165

ul. Żwirki i Wigury nr 61

02-091 Warszawa

e-mail: komisja.bioetyczna@wum.edu.pl

www.komisja-bioetyczna.wum.edu.pl

KB/19/2021

Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym
w dniu 30 lipca 2021 r. po zapoznaniu się z wnioskiem:

Dr n.med. Bartłomiej Górski
Zakład Chorób Błony Śluzowej i Przyzębia WLD,
ul. Miodowa 18, 00-2467 Warszawa

dotyczącym: wyrażenia opinii w sprawie badania pt.: "Porównanie użycia podnabłonkowej tkanki łącznej z oraz bez usieciowanego kwasu hialuronowego w połączeniu ze zmodyfikowaną techniką tunelową w leczeniu mnogich recesji: randomizowana próba kliniczna."

- Badanie może być prowadzone wyłącznie w okresie obowiązywania polisy ubezpieczeniowej.

wyraża następującą opinię

- stwierdza, że jest ono dopuszczalne i zgodne z zasadami naukowo-etycznymi*.
- ~~— stwierdza, że jest ono niedopuszczalne i niezgodne z zasadami naukowo-etycznymi.*~~

Uwagi Komisji – *verte*

Komisja działa na podstawie art.29 ustawy z dnia 5.12.1996r. o zawodzie lekarza /Dz.U.nr 28/97 poz.152 wraz z późn.zm./, zarządzenia MZiOŚ z dn.11.05.1999r. w sprawie szczegółowych zasad powoływania i finansowania oraz trybu działania komisji bioetycznych /Dz.U.nr 47 poz.480/, Ustawy prawo farmaceutyczne z dnia 6 września 2001r. (Dz.U.Nr 126, poz. 1381 z późn. zm.) oraz Zarządzenie nr 56/2007 z dnia 15 października 2007r. w sprawie działania Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym /Regulamin Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym/.
Komisja działa zgodnie z zasadami GCP .

Przewodnicząca Komisji Bioetycznej


Prof. dr hab. n. med. Magdalena Kuźma-Kozakiewicz

*niepotrzebne skreślić



Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym

Tel.: 022/ 57 - 20 -303
Fax: 022/ 57 - 20 -165

ul. Żwirki i Wigury nr 61
02-091 Warszawa

e-mail: komisja.bioetyczna@wum.edu.pl
www.komisja-bioetyczna.wum.edu.pl

KB/ A /A2024

Komisja Bioetyczna przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym
w dniu 08 stycznia 2024 r. po zapoznaniu się z wnioskiem:

Dr hab. n.med. Bartłomiej Górski
Zakład Chorób Błony Śluzowej i Przyzębia
ul. Binińskiego 6, 02-097 Warszawa,

dotyczącym: akceptacji dokumentacji obejmujących:

1. Program badania wersja 2 z dnia 14.12.2023 r.
 2. Informacja dla pacjenta wersja 2 z dnia 14.12.2023 r.
- do badania pt. „Porównanie użycia podnabłonkowej tkanki łącznej z oraz bez usieciowanego kwasu hialuronowego w połączeniu ze zmodyfikowaną techniką tunelową w leczeniu mnogich recesji.”

**wyraża następującą
opinię**

- stwierdza, że są one dopuszczalne i zgodne z zasadami naukowo-etycznymi*.
- stwierdza, że są one niedopuszczalne i niezgodne z zasadami naukowo-etycznymi.*

-Komisja działa na podstawie regulaminu działania Komisji Bioetycznej przy Warszawskim Uniwersytecie Medycznym, przyjętego zarządzeniem Rektora WUM nr 200/2022 z dnia 18 października 2022 r. oraz przepisów prawa powszechnie obowiązującego, w tym przede wszystkim ustawy z dnia 5 grudnia 1996 r. o zawodach lekarza i lekarza dentysty, ustawy z dnia 6 września 2001 r. Prawo farmaceutyczne, ustawy z 22 kwietnia 2022 r. o wyrobach medycznych oraz prawa międzynarodowego lub unijnego, a także odpowiednich norm naukowych lub zawodowych.

Przewodniczący Komisji Bioetycznej


Prof. dr hab. n.med. Magdalena Kuźma-Kozakiewicz

*niepotrzebne skreślić

XI. Oświadczenia współautorów publikacji

Warszawa, 19.11.2024r.
(miejscowość, data)

Izabela Skierska
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Tunnel technique with cross-linked hyaluronic acid in addition to subepithelial connective tissue graft, compared with connective tissue graft alone, for the treatment of multiple gingival recessions: 6-month outcomes of a randomized clinical trial.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Opracowanie koncepcji i metodologii, przygotowanie pacjentów do badań, przeprowadzenie pomiarów parametrów klinicznych przed i po zabiegach, analizę i interpretację wyników, przygotowanie manuskryptu, ostateczna ocena artykułu przed oddaniem do recenzji.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określę jako 47 %



(podpis oświadczającego)

Warszawa, 19.11.2024r.
(miejscowość, data)

Bartłomiej Górski
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Tunnel technique with cross-linked hyaluronic acid in addition to subepithelial connective tissue graft, compared with connective tissue graft alone, for the treatment of multiple gingival recessions: 6-month outcomes of a randomized clinical trial.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Opracowanie koncepcji i metodologii, kwalifikacja pacjentów do badania, przeprowadzenie zabiegów chirurgicznych, analizę i interpretację wyników, ostateczna ocena artykułu przed oddaniem do recenzji.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám jako 50%.

Wkład Izabeli Skierskiej w powstawanie publikacji określám jako 47%,

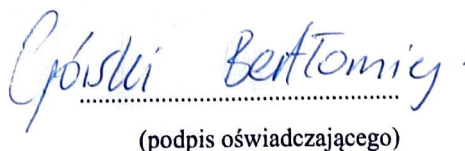
(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii, przygotowanie pacjentów do badań, przeprowadzenie pomiarów parametrów klinicznych przed i po zabiegach, analizę i interpretację wyników, przygotowanie manuskryptu, ostateczna ocena artykułu przed oddaniem do recenzji.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażám zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. dent. Izabeli Skierskiej.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)



(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 19.11.2024r.
(miejscowość, data)

Marcin Szerszeń
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Tunnel technique with cross-linked hyaluronic acid in addition to subepithelial connective tissue graft, compared with connective tissue graft alone, for the treatment of multiple gingival recessions: 6-month outcomes of a randomized clinical trial.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przeprowadzenie oceny estetycznej (RES), ostateczna ocena artykułu przed oddaniem do recenzji.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 2%.

Wkład Izabeli Skierskiej w powstawanie publikacji określam jako 47%.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii, przygotowanie pacjentów do badań, przeprowadzenie pomiarów parametrów klinicznych przed i po zabiegach, analizę i interpretację wyników, przygotowanie manuskryptu, ostateczna ocena artykułu przed oddaniem do recenzji.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. dent. Izabeli Skierskiej.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)


(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 19.11.2024r.
(miejscowość, data)

Katarzyna Mańka- Malara
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Tunnel technique with cross-linked hyaluronic acid in addition to subepithelial connective tissue graft, compared with connective tissue graft alone, for the treatment of multiple gingival recessions: 6-month outcomes of a randomized clinical trial.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:
Ostateczna ocena artykułu i jego redakcja przed oddaniem do recenzji.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 1%.
Wkład Izabeli Skierskiej w powstawanie publikacji określam jako 47%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii, przygotowanie pacjentów do badań, przeprowadzenie pomiarów parametrów klinicznych przed i po zabiegach, analizę i interpretację wyników, przygotowanie manuskryptu, ostateczna ocena artykułu przed oddaniem do recenzji.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. dent. Izabeli Skierskiej.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)



.....
(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 19.11.2024r.
(miejscowość, data)

Izabela Skierska
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Tunnel technique and subepithelial connective tissue graft, with or without cross-linked hyaluronic acid, in the treatment of multiple gingival recessions: 12-month outcomes of a randomized clinical trial.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Opracowanie koncepcji i metodologii, wykonanie pomiarów parametrów klinicznych przed i po zabiegach, analiza i interpretacja wyników, pobranie próbek do analizy histologicznej, przygotowanie figur i tabel, napisanie manuskryptu, ostateczna ocena artykułu i jego redakcja przed wysłaniem.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam jako 70%



(podpis oświadczającego)

Warszawa, 19.11.2024r.
(miejscowość, data)

Bartłomiej Górski
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Tunnel technique and subepithelial connective tissue graft, with or without cross-linked hyaluronic acid, in the treatment of multiple gingival recessions: 12-month outcomes of a randomized clinical trial.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Opracowanie koncepcji i metodologii, kwalifikacja pacjentów do badania, przeprowadzenie zabiegów chirurgicznych, analiza i interpretacja wyników, udział w pisaniu manuskryptu i jego redakcja przed wysłaniem.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám jako 20%.

Wkład Izabeli Skierskiej w powstawanie publikacji określám jako 70%,

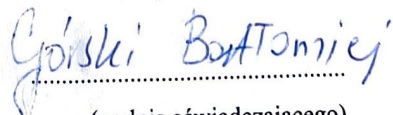
(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii, wykonanie pomiarów parametrów klinicznych przed i po zabiegach, analiza i interpretacja wyników, pobranie próbek do analizy histologicznej, przygotowanie figur i tabel, napisanie manuskryptu, ostateczna ocena artykułu i jego redakcja przed wysłaniem.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. dent. Izabeli Skierskiej.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)


(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 19.11.2024r.
(miejscowość, data)

Lukasz Fus
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Tunnel technique and subepithelial connective tissue graft, with or without cross-linked hyaluronic acid, in the treatment of multiple gingival recessions: 12-month outcomes of a randomized clinical trial.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przeprowadzenie analizy histologicznej, udział w pisaniu manuskryptu i jego redakcja przed wysłaniem.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 10%.

Wkład Izabeli Skierskiej w powstawanie publikacji określam jako 70%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii, wykonanie pomiarów parametrów klinicznych przed i po zabiegach, analiza i interpretacja wyników, pobranie próbek do analizy histologicznej, przygotowanie figur i tabel, napisanie manuskryptu, ostateczna ocena artykułu i jego redakcja przed wysłaniem.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. dent. Izabeli Skierskiej.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)


(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 19.11.2024r.
(miejscowość, data)

Izabela Skierska
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Tunnel Technique and Subepithelial Connective Tissue Graft, With or Without Cross-Linked Hyaluronic Acid, in the Treatment of Multiple Gingival Recessions: Prognostic Parameters for Clinical Treatment Outcomes of Randomized Controlled Trial.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii, przygotowanie figur i tabel, udział w pisaniu manuskryptu, ostateczna ocena artykułu u jego redakcja przed wysłaniem.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam jako 42%



(podpis oświadczającego)

Warszawa, 19.11.2024r.
(miejscowość, data)

Bartłomiej Górski
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Tunnel Technique and Subepithelial Connective Tissue Graft, With or Without Cross-Linked Hyaluronic Acid, in the Treatment of Multiple Gingival Recessions: Prognostic Parameters for Clinical Treatment Outcomes of Randomized Controlled Trial.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: opracowanie koncepcji i metodologii, analiza i interpretacja wyników, napisanie manuskryptu, ostateczna ocena artykułu i jego redakcja przed wysłaniem.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 50%.

Wkład Izabeli Skierskiej w powstawanie publikacji określam jako 42%,

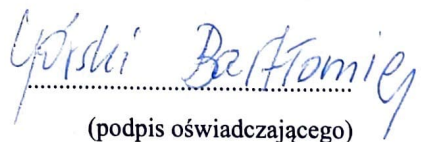
(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii, przygotowanie figur i tabel, udział w napisaniu manuskryptu, ostateczna ocena artykułu i jego redakcja przed wysłaniem.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. dent. Izabeli Skierskiej.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)


(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 19.11.2024r.
(miejscowość, data)

Kacper Nijakowski
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Tunnel Technique and Subepithelial Connective Tissue Graft, With or Without Cross-Linked Hyaluronic Acid, in the Treatment of Multiple Gingival Recessions: Prognostic Parameters for Clinical Treatment Outcomes of Randomized Controlled Trial.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: analiza i interpretacja wyników, ostateczna ocena artykułu i jego redakcja przed wysłaniem.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określłam jako 6%.

Wkład Izabeli Skierskiej w powstawanie publikacji określłam jako 42%,

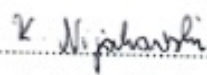
(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii, przygotowanie figur i tabel, udział w napisaniu manuskryptu, ostateczna ocena artykułu i jego redakcja przed wysłaniem.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. dent. Izabeli Skierskiej.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)


.....
(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 19.11.2024r.
(miejscowość, data)

Aniela Brodzikowska
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Tunnel Technique and Subepithelial Connective Tissue Graft, With or Without Cross-Linked Hyaluronic Acid, in the Treatment of Multiple Gingival Recessions: Prognostic Parameters for Clinical Treatment Outcomes of Randomized Controlled Trial.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi: ostateczna ocena artykułu i jego redakcja przed wysłaniem.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 2%.

Wkład Izabeli Skierskiej w powstawanie publikacji określam jako 42%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: opracowanie koncepcji i metodologii, przygotowanie figur i tabel, udział w napisaniu manuskryptu, ostateczna ocena artykułu i jego redakcja przed wysłaniem.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. dent. Izabeli Skierskiej.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)



(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 19.11.2024r.
(miejscowość, data)

Izabela Skierska
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Leczenie mnogich recesji dziąsłowych z zastosowaniem zmodyfikowanej techniki tunelowej z przeszczepem podnabłonkowej tkanki łącznej i kwasu hialuronowego – opis przypadku.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Przygotowanie koncepcji, analiza i interpretacja wyników, napisanie artykułu, ostateczna ocena artykułu przed oddaniem do recenzji.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określám jako 95 %



(podpis oświadczającego)

Warszawa, 19.11.2024r.
(miejscowość, data)

Bartłomiej Górski
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Leczenie mnogich recesji dziąsłowych z zastosowaniem zmodyfikowanej techniki tunelowej z przeszczepem podnabłonkowej tkanki łącznej i kwasu hialuronowego – opis przypadku.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Ostateczna ocena artykułu i jego redakcja przed oddaniem do recenzji.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 2%.

Wkład Izabeli Skierskiej w powstawanie publikacji określam jako 95%,

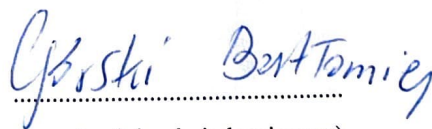
(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: przygotowanie koncepcji, analiza i interpretacja wyników, napisanie artykułu, ostateczna ocena artykułu przed oddaniem do recenzji.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. dent. Izabeli Skierskiej.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)



(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 19.11.2024r.
(miejscowość, data)

Beata Wyrębek
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Leczenie mnogich recesji dziąsłowych z zastosowaniem zmodyfikowanej techniki tunelowej z przeszczepem podnabłonkowej tkanki łącznej i kwasu hialuronowego – opis przypadku.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Ostateczna ocena artykułu i jego redakcja przed oddaniem do recenzji.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określiam jako 2%.

Wkład Izabeli Skierskiej w powstawanie publikacji określiam jako 95%,

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: przygotowanie koncepcji, analiza i interpretacja wyników, napisanie artykułu,

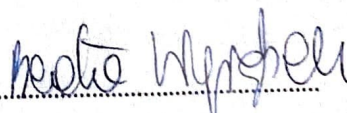
ostateczna ocena artykułu przed oddaniem do recenzji.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej

lek. dent. Izabeli Skierskiej.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)


(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników

Warszawa, 19.11.2024r.
(miejscowość, data)

Paweł Sawicki
(imię i nazwisko)

OŚWIADCZENIE

Jako współautor pracy pt. „Leczenie mnogich recesji dziąsłowych z zastosowaniem zmodyfikowanej techniki tunelowej z przeszczepem podnabłonkowej tkanki łącznej i kwasu hialuronowego – opis przypadku.” oświadczam, iż mój własny wkład merytoryczny w przygotowanie, przeprowadzenie i opracowanie badań oraz przedstawienie pracy w formie publikacji stanowi:

Ostateczna ocena artykułu przed oddaniem do recenzji.

Mój udział procentowy w przygotowaniu publikacji określam jako 1%.

Wkład Izabeli Skierskiej w powstawanie publikacji określam jako 95%,

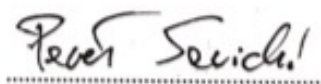
(imię i nazwisko kandydata do stopnia)

obejmował on: przygotowanie koncepcji, analiza i interpretacja wyników, napisanie artykułu, ostateczna ocena artykułu przed oddaniem do recenzji.

(merytoryczny opis wkładu kandydata do stopnia w powstanie publikacji)*

Jednocześnie wyrażam zgodę na wykorzystanie w/w pracy jako część rozprawy doktorskiej lek. dent. Izabeli Skierskiej.

(imię i nazwisko kandydata do stopnia)



(podpis oświadczającego)

*w szczególności udziału w przygotowaniu koncepcji, metodyki, wykonaniu badań, interpretacji wyników