

UNIVERSIDADE PAULISTA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA DE
DUAS TÉCNICAS DE REMOÇÃO DE ENXERTO
SUBEPITELIAL DE TECIDO CONJUNTIVO: Um estudo**
clínico-laboratorial piloto e de boca dividida

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

SAMIR ABSY

SÃO PAULO
2022

UNIVERSIDADE PAULISTA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

AVALIAÇÃO DO PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA DE
DUAS TÉCNICAS DE REMOÇÃO DE ENXERTO
SUBEPITELIAL DE TECIDO CONJUNTIVO: Um estudo
clínico-laboratorial piloto e de boca dividida

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Ribeiro Cirano

SAMIR ABSY

SÃO PAULO

2022

Absy, Samir.

Avaliação do perfil de expressão gênica de duas técnicas de remoção de enxerto subepitelial de tecido conjuntivo: um estudo clínico-laboratorial piloto e de boca dividida / Samir Absy. - 2022. 16 f. : il. color. + CD-ROM.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, São Paulo, 2022.

Área de concentração: Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Ribeiro Cirano.

Coorientador: Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati.

1. Enxerto subepitelial de tecido conjuntivo. 2. Expressão gênica. 3. Reparo tecidual. I. Cirano, Fabiano Ribeiro (orientador). II. Casati, Márcio Zaffalon (coorientador). III. Título.

SAMIR ABSY

**AVALIAÇÃO DO PERFIL DE EXPRESSÃO GÊNICA DE
DUAS TÉCNICAS DE REMOÇÃO DE ENXERTO
SUBEPITELIAL DE TECIDO CONJUNTIVO: Um estudo
clínico-laboratorial piloto e de boca dividida**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista – UNIP, para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

_____ / ____ /20 ____.
Prof. Dr. Fabiano Ribeiro Cirano
Universidade Paulista – UNIP

_____ / ____ /20 ____.
Prof.^a Dr.^a Karina Silverio Gonzales Ruiz
FOP/Unicamp

_____ / ____ /20 ____.
Prof. Dr. Márcio Zaffalon Casati
Universidade Paulista – UNIP

DEDICATÓRIA

Dedico esta conquista aos meus pais, para que tenham motivos de orgulho e que se sintam felizes no dia de hoje.

Ao meu irmão Fuad, que sempre foi e será meu maior exemplo.

À minha irmã Jamile, que está sempre comigo em todos os momentos.

À minha namorada Teka, que está sempre me incentivando a lutar pelos meus objetivos.

Aos meus professores de Periodontia e mentores de profissão e de vida Suzana, Márcio e Fabiano, que me acompanham desde a graduação e são essenciais para o meu crescimento pessoal e profissional. Também aos professores Mônica, Renato, Mabelle e Fernanda, que me deram e continuam me dando todo o suporte para que eu possa evoluir.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me conceder saúde e sabedoria para correr atrás dos meus sonhos, aos meus professores de Periodontia da UNIP, pois, sem eles, eu não chegaria em lugar algum, e à minha família, por todo o suporte incondicional de sempre.

Agradeço as professoras da FOP/UNICAMP Karina e Catarina, que se doaram completamente, para que tudo das análises dessem certo e que dedicaram muito tempo e trabalho para este estudo.

Agradeço à FOUNIP, por me proporcionar toda estrutura e conhecimento para que eu pudesse concluir a minha pesquisa.

Agradeço à CAPES/PROSUP, pelo apoio com a bolsa durante todo o curso de mestrado.

Agradeço à empresa Techsuture, pelo apoio com o patrocínio dos excelentes fios de sutura para todas as cirurgias.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o perfil de expressão gênica do enxerto subepitelial de tecido conjuntivo (ESTC), obtido por diferentes técnicas: enxerto gengival desepitelizado (EGD) e lâmina dupla (LD). Para isto, 3 pacientes com indicação de tratamento de retrações gengivais ou com aumento de espessura de tecido mole ao redor de implantes foram selecionados. As porções mesiais e distais dos enxertos removidos por ambas as técnicas foram utilizadas para a avaliação da expressão gênica dos seguintes genes: enzima conversora de angiotensina (ACE), trombospondina-1 (THBS1), fibronectina-1 (FN1), fator de crescimento de fibroblasto-2 (FGF2); angiopoietina-1 (ANGPT1), fator de crescimento endotelial vascular-A (VEGFA), fator de rede de comunicação celular-1 (CCN1), fator de rede de comunicação celular-2 (CCN2); queratina-1 (KRT1), queratina-2 (KRT2), periplaquina (PPL) e colágeno-18 (KNO/COL18A1). O gene FN1 foi mais expresso na LD, enquanto os genes ANGPT1, CCN1, CCN2 e KNO/COL18A1 tiveram maior expressão para EGD ($p < 0,05$). Já para as regiões avaliadas, os genes THBS1 e KNO/COL18A1 foram mais expressos na distal dos tecidos, já o gene CCN1 foi mais expresso na mesial dos tecidos ($p < 0,05$). Pode-se concluir que genes relacionados à angiogênese e à queratogênese foram mais expressos na EGD, enquanto os genes relacionados à fibrinogênese (coagulação) foram mais expressos na LD. Já para as regiões, os genes relacionados à angiogênese tiveram maior expressão na mesial, enquanto a região distal teve os genes mais expressos nos processos de fibrinogênese e queratogênese.

Palavras-chave: Enxerto subepitelial de tecido conjuntivo; Expressão gênica; Reparo tecidual.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the gene expression profile of the subepithelial connective tissue graft (SCTG), obtained by different techniques: deepithelialized gingival graft (DGG) and double layer (DL). For this, 3 patients with indication for treatment of gingival recession or with increase in soft tissue thickness around implants were selected. The mesial and distal portions of the grafts removed by both techniques were used to evaluate the gene expression of the following genes: angiotensin-converting enzyme (ACE), thrombospondin-1 (THBS1), fibronectin-1 (FN1), growth factor fibroblast-2 (FGF2); angiopoietin-1 (ANGPT1), vascular endothelial growth factor-A (VEGFA), cell communication network factor-1 (CCN1), cell communication network factor-2 (CCN2); keratin-1 (KRT1), keratin-2 (KRT2), periplakin (PPL) and collagen-18 (KNO/COL18A1). The FN1 gene was more expressed in LD, while the ANGPT1, CCN1, CCN2 and KNO/COL18A1 genes were more expressed in DGG ($p < 0.05$). As for the evaluated regions, the THBS1 and KNO/COL18A1 genes were more expressed in the distal tissues, while the CCN1 gene was more expressed in the mesial tissues ($p < 0.05$). It can be concluded that genes related to angiogenesis and keratogenesis were more expressed in DGG, while genes related to fibrinogenesis (coagulation) were more expressed in DL. As for the regions, the genes related to angiogenesis had greater expression in the mesial region, while the distal region had the genes more expressed in the processes of fibrinogenesis and keratogenesis.

Key-words: Subepithelial connective tissue graft; Gene expression; Tissue repair.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 CONCLUSÃO GERAL.....	13
REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO	14

1 INTRODUÇÃO

O principal método de escolha para tratamento de retrações gengivais é o ESTC, que é atualmente considerado uma ferramenta terapêutica essencial em cirurgia plástica periodontal e peri-implantar. O ESTC mostrou melhores resultados estéticos e comportamentais biológicos em diferentes procedimentos, quando comparado a outros tratamentos, como enxertos gengivais livres, aloenxertos e regeneração tecidual guiada (Carranza; Pontarolo; Rojas, 2019). O uso de ESTC tornou-se um importante componente da prática clínica de rotina para melhorar os resultados estéticos de restaurações implantossuportadas e para fornecer uma faixa suficiente de mucosa queratinizada ao redor implantes (Thoma et al., 2014), e é amplamente usado, hoje, em tratamentos de defeitos de recessão gengival, tendo em vista algumas diferentes técnicas para obtenção deste enxerto.

A fibromucosa palatina é caracterizada por um tecido conjuntivo denso (lâmina própria), coberto por um epitélio ortoqueratinizado (Müller et al., 2000). Uma camada de tecido adiposo e glandular (submucosa) de espessura variada está presente entre a fibromucosa palatina e o periósteo que cobre o osso palatino (Harris, 2003). Uma variação notável na composição histológica do ESTC foi observada, tanto em termos da espessura, como da porcentagem, da lâmina própria e da submucosa. A espessura da fibromucosa palatina varia de paciente para paciente (Harris, 2003; Müller et al., 2000).

Técnicas de remoção precoce (Edel, 1974) obtiveram um enxerto do submucosa palatina profunda por um “alçapão” de retalho de espessura dividida, embora necrose e dor estejam associadas a esta abordagem. Fickl et al. (2014) demonstraram que uma melhor cicatrização pode ser obtida com a Técnica de Incisão Única, proposta por Hürzeler e Weng (1999), enquanto Harris (1992) utilizou um cabo de bisturi com lâminas paralelas, realizando duas incisões horizontais paralelas, com distância de 1,5 mm entre si na submucosa profunda. Tecido removido da submucosa palatina mais profunda foi associado a aumento da dor e morbidade (Burkhardt; Hämmerle; Lang, 2015) e maior conteúdo de tecido adiposo/glandular (Azar et al., 2019), que pode não ser preferível em algumas situações clínicas, devido a uma diminuição do potencial de queratinização (Sculean; Gruber; Bosshardt, 2014). O EGD (Zucchelli et al., 2010) é uma abordagem atual que fornece enxertos finos e uniformes da lâmina própria mais densa, excluindo completamente a submucosa mais

profunda. As desvantagens incluem o tempo necessário para a desepitelização e uma grande área de ferida do tecido conjuntivo exposto. Além disso, inclusões de resíduos epiteliais foram relatadas e a presença de remanescentes epiteliais encontradas nesta técnica foram avaliadas (Azar et al., 2019; Cardoso et al., 2021; Romano et al., 2017), em que se pode relacionar ao trauma cirúrgico com consequente inclusão de epitélio entre enxerto e área receptora (De Castro; Vêncio; Mendonça, 2007). Isso tem sido consistentemente associado a um maior desconforto para o paciente, devido ao pós-operatório dor e/ou sangramento (Del Pizzo et al., 2002; Farnoush, 1978; Jahnke et al., 1993). A fim de minimizar o trauma cirúrgico e reduzir o desconforto pós-operatório, muitos autores propuseram diferentes técnicas de remoção (Harris, 1994). Bertl et al. (2015) fizeram um estudo histológico em cadáveres humanos e mostraram que a técnica de remoção é importante na composição do ESTC, também mostraram que os enxertos removidos com a técnica EGD contêm maiores proporções de tecido conjuntivo denso e menores proporções de tecido adiposo, comparados àqueles removidos de área mais profunda.

Nas questões do reparo tecidual, o processo hemostático é iniciado por lesão tecidual, onde o local do defeito é obliterado e ocorre rapidamente pela formação de coágulo sanguíneo (Dickinson et al., 2013), enquanto a formação da nova malha de fibrina, incluída com outras proteínas para adesão celular (fibroconexão e vitronetina) é basicamente o componente principal do matriz extracelular (Reheman et al., 2005).

Este conglomerado de células e a matriz rica em fibrina são comumente denominados “matriz extracelular provisória”, que será substituída posteriormente pelo tecido de granulação. A fase inflamatória é paralela à fase hemostática. O processo inflamatório primário catabólico é transitório, porém crucial para as etapas seguintes da fase de “formação de novos tecidos”, que é iniciada pela formação do “tecido de granulação”, uma estrutura morfológica altamente vascularizada constituída de fibroblasto e uma matriz extracelular. Desta forma, grande esforço é feito no controle de cicatrização, basicamente para evitar a formação de cicatrizes (Wynn; Ramalingam, 2012). Na cicatrização de feridas periodontais, ESTCs podem acabar com um tecido denso, que é considerado para fornecer estabilidade a longo prazo da área (Santagata et al., 2014).

Diante disso, alguns autores avaliaram mais profundamente o processo de reparo tecidual, analisando a relação dos ESTC com os processos de fibrinogênese, angiogênese e queratogênese que foram avaliados (Sculean; Gruber; Bosshardt,

2014). Alguns marcadores de expressão gênica, que se enquadram dentro destes três processos de reparo, poderiam ser avaliados para indicar situações comparativas entre diferentes técnicas de remoção de enxertos de tecido conjuntivo, a fim de indicar hipóteses clínicas e novos estudos dentro desta linha de raciocínio (Ciarlillo et al., 2017; Jiang et al., 2020; Kim et al., 2020; Liu; Thompson; Leask, 2014; Nguyen et al., 2019; Sculean; Gruber; Bosshardt, 2014; Zollinger; Smith, 2017). Portanto, ainda não se encontram estudos que avaliaram a qualidade do ESTC nas técnicas EGD e LD.

Dentro deste contexto, foram selecionados grupos de genes que se enquadram dentro dos processos de fibrinogênese, angiogênese e queratogênese, para análises através de expressão gênica: fibrinogênese (coagulação) – enzima conversora de angiotensina (ACE), trombospondina-1 (THBS1), fibronectina-1 (FN1), fator de crescimento de fibroblasto-2 (FGF2); angiogênese – angiopoietina-1 (ANGPT1), fator de crescimento endotelial vascular-A (VEGFA), fator de rede de comunicação celular-1 (CCN1), fator de rede de comunicação celular-2 (CCN2); queratogênese – queratina-1 (KRT1), queratina-2 (KRT2), periplaquina (PPL) e colágeno-18 (KNO/COL18A1). Estes genes foram selecionados de acordo com suas interações e funções em diversos estudos, agrupados em suas características específicas. Para fibrinogênese (coagulação), foram inseridos os genes FN1, que são uma proteína da matriz extracelular implicada em muitos processos celulares, e um deles seria a cicatrização de feridas, além de demonstrar ligações com outras estruturas importantes nos processos de cicatrização tecidual como a fibrina, a tenascina e o sulfato de heparano (Ingham; Brew; Erickson, 2004). Dentro, também, do grupo da fibrinogênese, foram incluídos os genes THBS1, que são uma glicoproteína que pode afetar a fibrose, ativando marcadores (TGF-beta1) em direta interação com cicatrização e regeneração de feridas cutâneas. Sua regulação negativa pode inibir significativamente a ocorrência e o desenvolvimento de cicatrizes (Jiang et al., 2020) e ACE, que pode ser comum na reparação tecidual no coração de ratos, podendo servir para otimizar o reparo tecidual (Sun; Weber, 1996). Agrupados nas características de angiogênese estão ANGPT1, CCN1 e CCN2 e VEGFA. CCN1 e 2 são proteínas que desempenham papéis como regulador da inflamação e cicatrização de feridas, por exemplo (Kim et al., 2020). Já mostraram, em estudo com ratos, que avaliaram o reparo do tecido cutâneo, que, em uma menor quantidade de CCN2, ocorreu maior resistência à fibrose induzida, e a fibrose progressiva da pele foi aliviada pela perda de CCN2 (Liu; Thompson; Leask, 2014), demonstrando, também, que o

CCN2 pode ser necessário para a fibrinogênese em ratos. Outros genes que foram avaliados em alguns estudos e têm se mostrado eficientes nos processos de angiogênese foram ANGPT1 e VEGFa. No primeiro, que é uma proteína com papel importante no desenvolvimento vascular e angiogênese, e num estudo que avaliou a cicatrização com larvas de *Lucilia*, puderam ser identificadas propriedades indicadoras, onde, aumentadas as funções angiogênicas, pode ser facilitada a cicatrização (Polat et al., 2014); já o segundo possui características semelhantes nos processos angiogênicos e é considerado um regulador-chave no processo de cicatrização de feridas (Ciarlillo et al., 2017). Com funções queratogênicas, foram incluídos os genes PPL e KNO/COL18A1. O primeiro é um componente do envelope cornificado dos queratinócitos, possuindo interações com proteínas queratina-8 e vimentina, além da queratina-8 e da queratina-18 serem expressas durante a regeneração e a cicatrização tecidual (Kazerounian et al., 2011). Já o KNO/COL18A1 pode ser considerado um colágeno glicosamino-glicano, demonstrado no estudo de Nguyen et al. (2019), que comparou se a presença deste colágeno poderia contribuir com a queratinização da mucosa oral. Eles investigaram a diferença da distribuição do colágeno tipo XVIII entre mucosas queratinizadas e não queratinizadas e tentaram esclarecer o papel do colágeno tipo XVIII na queratinização epitelial da mucosa oral por análise dos efeitos da regulação negativa do gene COL18A1 *in vitro*, usando células TR146 e deleção do gene Col18a1 *in vivo*, usando um camundongo Col18-knockout. A expressão do colágeno tipo XVIII foi investigada por análise imunohistoquímica em mucosa palatina (queratinizada) e bucal (não queratinizada). O sinal do colágeno tipo 18 A1 foi observado nas mucosas de ambos os tecidos, porém, curiosamente, foi fortemente expresso na mucosa queratinizada, e os níveis de mRNA de genes relacionados à queratinização, KRT1 (60%), KRT10 (30%), e INV (30%), também diminuíram significativamente, indicando que o colágeno tipo XVIII poderia desempenhar um papel essencial na queratinização da mucosa oral (Nguyen et al., 2019).

Dentro de todas as informações e correlações dos estudos citados, pode-se obter informações em que foi possível a elaboração deste estudo clínico-laboratorial, com o objetivo de se aprofundar nas questões do reparo tecidual, relacionando-os com os ESTCs, cujos genes individualizados, através da expressão gênica, relacionaram-se com processos do reparo tecidual, nos quais sugeriu-se potencializar alguma resposta nos tecidos.

A avaliação do perfil de expressão gênica diante do ESTC removido do palato, além de ser um estudo inédito, pode contribuir com informações importantes relacionadas aos mecanismos de reparo tecidual dos ESTC, corroborando a escolha de abordagens clínicas mais previsíveis e a possibilidade de se obter informações nos resultados, para que seja abordada em novos estudos sobre o tema.

2 CONCLUSÃO GERAL

EGD teve maior expressão nos processos de angiogênese e queratogênese, enquanto a LD mostrou maior expressão no processo de coagulação. Observou-se, também, que a região mesial obteve maior expressão no processo de angiogênese, enquanto a região distal, os processos de coagulação e queratogênese.

REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

- Azar EL, Rojas MA, Mandalunis P, Gualtieri A, Carranza N. Histological evaluation of subepithelial connective tissue grafts harvested by two different techniques: Preliminary study in humans. *Acta Odontol Latinoam*. 2019 Apr 1;32(1):10-6.
- Bertl K, Pifl M, Hirtler L, Rendl B, Nürnberger S, Stavropoulos A, et al. Relative Composition of Fibrous Connective and Fatty/Glandular Tissue in Connective Tissue Grafts Depends on the Harvesting Technique but not the Donor Site of the Hard Palate. *J Periodontol*. 2015 Dec;86(12):1331-9.
- Burkhardt R, Hämmerle CH, Lang NP. Self-reported pain perception of patients after mucosal graft harvesting in the palatal area. *J Clin Periodontol*. 2015; 42:281-7.
- Cardoso MV, Lara VS, Sant'Ana ACP, Damante CA, Ragghianti Zangrando MS. Late complications after root coverage with two types of subepithelial connective tissue grafts, clinical and histopathological evaluation: A prospective cohort study. *J Clin Periodontol*. 2021 Mar;48(3):431-40.
- Carranza N, Pontarolo C, Rojas MA. Laterally Stretched Flap With Connective Tissue Graft to Treat Single Narrow Deep Recession Defects on Lower Incisors. *Clin Adv Periodontics*. 2019 Mar;9(1):29-33.
- Ciarlillo D, Celeste C, Carmeliet P, Boerboom D, Theoret C. A hypoxia response element in the Vegfa promoter is required for basal Vegfa expression in skin and for optimal granulation tissue formation during wound healing in mice. *PLoS One*. 2017 Jul 7;12(7):e0180586.
- De Castro LA, Vêncio EF, Mendonça EF. Epithelial inclusion cyst after free gingival graft: a case report. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2007 Oct;27(5):465-9.
- Del Pizzo M, Modica F, Bethaz N, Priotto P, Romagnoli R. The connective tissue graft: a comparative clinical evaluation of wound healing at the palatal donor site. A preliminary study. *J Clin Periodontol*. 2002 Sep;29(9):848-54.
- Dickinson DP, Coleman BG, Batrice N, Lee J, Koli K, Pennington C, et al. Events of wound healing/regeneration in the canine supraalveolar periodontal defect model. *J Clin Periodontol*. 2013 May;40(5):527-41.
- Edel A. Clinical evaluation of free connective tissue grafts used to increase the width of keratinised gingiva. *J Clin Periodontol*. 1974;1(4):185-96.
- Farnoush A. Techniques for the protection and coverage of the donor sites in free soft tissue grafts. *J Periodontol*. 1978 Aug;49(8):403-5.

Fickl S, Fischer KR, Jockel-Schneider Y, Stappert CF, Schlagenhaut U, Kebschull M. Early wound healing and patient morbidity after single-incision vs. trap-door graft harvesting from the palate--a clinical study. *Clin Oral Investig*. 2014 Dec;18(9):2213-9.

Harris RJ. Histologic evaluation of connective tissue grafts in humans. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2003 Dec;23(6):575-83.

Harris RJ. The connective tissue and partial thickness double pedicle graft: a predictable method of obtaining root coverage. *J Periodontol*. 1992 May;63(5):477-86.

Harris RJ. The connective tissue with partial thickness double pedicle graft: the results of 100 consecutively-treated defects. *J Periodontol*. 1994 May;65(5):448-61.

Hürzeler MB, Weng D. A single-incision technique to harvest subepithelial connective tissue grafts from the palate. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1999 Jun;19(3):279-87.

Ingham KC, Brew SA, Erickson HP. Localization of a cryptic binding site for tenascin on fibronectin. *J Biol Chem*. 2004 Jul 2;279(27):28132-5.

Jahnke PV, Sandifer JB, Gher ME, Gray JL, Richardson AC. Thick free gingival and connective tissue autografts for root coverage. *J Periodontol*. 1993 Apr;64(4):315-22.

Jiang D, Guo B, Lin F, Hui Q, Tao K. Effect of THBS1 on the Biological Function of Hypertrophic Scar Fibroblasts. *Biomed Res Int*. 2020 Dec 9;2020:8605407.

Kazerounian S, Duquette M, Reyes MA, Lawler JT, Song K, Perruzzi C, et al. Priming of the vascular endothelial growth factor signaling pathway by thrombospondin-1, CD36, and spleen tyrosine kinase. *Blood*. 2011 Apr 28;117(17):4658-66.

Liu S, Thompson K, Leask A. CCN2 expression by fibroblasts is not required for cutaneous tissue repair. *Wound Repair Regen*. 2014 Jan-Feb;22(1):119-24.

Müller HP, Schaller N, Eger T, Heinecke A. Thickness of masticatory mucosa. *J Clin Periodontol*. 2000 Jun;27(6):431-6.

Nguyen HTT, Ono M, Hara ES, Komori T, Edamatsu M, Yonezawa T, et al. Type XVIII Collagen Modulates Keratohyalin Granule Formation and Keratinization in Oral Mucosa. *Int J Mol Sci*. 2019 Sep 24;20(19):4739.

Polat E, Aksöz İ, Arkan H, Coşkunpınar E, Akbaş F, Onaran İ. Gene expression profiling of *Lucilia sericata* larvae extraction/secretion-treated skin wounds. *Gene*. 2014 Oct 25;550(2):223-9.

- Reheman A, Gross P, Yang H, Chen P, Allen D, Leytin V, et al. Vitronectin stabilizes thrombi and vessel occlusion but plays a dual role in platelet aggregation. *J Thromb Haemost.* 2005 May;3(5):875-83.
- Romano F, Perotto S, Cricenti L, Gotti S, Aimetti M. Epithelial Inclusions Following a Bilaminar Root Coverage Procedure with a Subepithelial Connective Tissue Graft: A Histologic and Clinical Study. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 2017 Sep/Oct;37(5):e245-52.
- Santagata M, Guariniello L, Prisco RV, Tartaro G, D'Amato S. Use of subepithelial connective tissue graft as a biological barrier: a human clinical and histologic case report. *J Oral Implantol.* 2014 Aug;40(4):465-8.
- Sculean A, Gruber R, Bosshardt DD. Soft tissue wound healing around teeth and dental implants. *J Clin Periodontol.* 2014 Apr;41 Suppl 15:S6-22.
- Sun Y, Weber KT. Angiotensin-converting enzyme and wound healing in diverse tissues of the rat. *J Lab Clin Med.* 1996 Jan;127(1):94-101.
- Thoma DS, Buranawat B, Hämmerle CH, Held U, Jung RE. Efficacy of soft tissue augmentation around dental implants and in partially edentulous areas: a systematic review. *J Clin Periodontol.* 2014 Apr;41 Suppl 15:S77-91.
- Wynn TA, Ramalingam TR. Mechanisms of fibrosis: therapeutic translation for fibrotic disease. *Nat Med.* 2012 Jul 6;18(7):1028-40.
- Zollinger AJ, Smith ML. Fibronectin, the extracellular glue. *Matrix Biol.* 2017 Jul;60-61:27-37.
- Zucchelli G, Mele M, Stefanini M, Mazzotti C, Marzadori M, Montebugnoli L, et al. Patient morbidity and root coverage outcome after subepithelial connective tissue and de-epithelialized grafts: a comparative randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2010 Aug 1;37(8):728-38.