



UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO-BICOCCA

DIPARTIMENTO DI CHIRURGIA E MEDICINA INTERDISCIPLINARE

Dottorato di Ricerca in Parodontologia Sperimentale

***TERAPIA LASER-ASSISTITA DELL'IPERTROFIA GENGIVALE
FARMACO INDOTTA: CORRELAZIONI CLINICHE***

Coordinatore: Prof. Marco Giovanni Baldoni

Tutore: Dott. Alessandro Leonida

Tesi di Dottorato di:

Dott. Paolo Ordesi

Matricola n°723959

Ciclo XXV - ANNO ACCADEMICO 2011 - 2012

INDICE

1.DRUG INDUCED GINGIVAL OVERGROWTH

4

TIPI DI AGENTI FARMACOLOGICI 5

Anticonvulsivanti 5

Calcio-antagonisti 5

Immunosoppressori 5

PREVALENZA 6

FATTORI DI RISCHIO 7

Placca 7

Altri fattori 8

ETÀ 9

PREDISPOSIZIONE GENETICA 10

MANIFESTAZIONI CLINICHE DI DIGO 13

ISTOPATOLOGIA 14

PATOGENESI 19

Ruolo dei fibroblasti 19

Ruolo delle citochine infiammatorie 20

Ruolo delle metalloproteinasi della matrice (MMP) 20

Variabili farmacocinetiche 21

Matrice non collagenica 24

Azioni farmaco indotte sui fattori di crescita 25

PREVENZIONE 27

TRATTAMENTO 27

Sostituzione della terapia 27

Trattamento non chirurgico 28

Trattamento parodontale chirurgico 29

ESITI DI TRATTAMENTO E TASSI DI RECIDIVA 29

BIBLIOGRAFIA 30

2. IL LASER IN ODONTOIATRIA

46

CARATTERISTICHE DELLA RADIAZIONE LASER 47

Direzionalità 47

Monocromaticità 48

Brillanza 48

Coerenza 48

Impulsi ultra-brevi 48

LASER A DIODI 50

Sviluppo e utilizzo del laser a diodi 50

Semiconduttore: definizione 50

Struttura 50

Il diodo 51

Qualità della luce laser e lunghezze d'onda 52

Le fibre ottiche 52

Modalità d'emissione dell'impulso 54

Interazione con i tessuti 54

Indicazioni ed applicazioni cliniche 55

BIBLIOGRAFIA 57

3.SPERIMENTAZIONE CLINICA

59

MATERIALI E METODI 59

Pazienti 59

Terapia chirurgica 59

RISULTATI 60

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI 66

BIBLIOGRAFIA 71

1. DRUG INDUCED GINGIVAL OVERGROWTH

La DIGO è stata per la prima volta descritta nel 1939 (Kimball, 1939), associata all'uso cronico del farmaco antiepilettico fenitoina. Un numero crescente di farmaci sono associata all'ipertrofia gengivale farmaco indotta (Drug Induced Gingival Overgrowth - DIGO). Attualmente, più di 20 farmaci sono associabili all'insorgenza della DIGO (Rees, & Levine, 1995), e si stima che il 5% della popolazione anziana negli Stati Uniti stia assumendo tali molecole (Lewis et al, 1993). I termini inglesi "gingival enlargement" (allargamento gengivale) o "gingival overgrowth" (crescita eccessiva gengivale) sono i termini che la letteratura internazionale preferisce adottare per identificare tutte le lesioni gengivali farmaco indotte, definite in precedenza con i termini "iperplasia gengivale" o "ipertrofia gengivale". Questi termini non riflettendo accuratamente le caratteristiche istologiche della gengiva farmacologicamente modificata, sono caduti in disuso.

I farmaci associati alla patogenesi della DIGO possono essere suddivisi in tre categorie: anticonvulsivanti, calcio-antagonisti, ed immunosoppressori. Sebbene l'effetto farmacologico di ciascuno di questi farmaci sia diverso, e diretto verso diversi tessuti bersaglio, tutti sembrano agire su un analogo tessuto bersaglio secondario, il tessuto connettivo gengivale, causando comuni riscontri clinici ed istopatologici.

TIPI DI AGENTI FARMACOLOGICI

Anticonvulsivanti

La fenitoina rimane il farmaco di scelta per il trattamento degli attacchi di grande male, dei lobi temporali e psicomotori da quando è stato introdotto negli anni 30 (Marshall et al., 1999). Negli Stati Uniti, una ricerca del 1993 mostrava come circa 2 milioni di pazienti assumessero fenitoina (Dongari et al., 1993). I primi casi segnalati di DIGO associata all'assunzione di fenitoina risalgono a più di 6 decenni fa (Marshall et al., 1999). Da allora, sono stati introdotti altri farmaci antiepilettici la cui assunzione è stata correlata a forme clinicamente significative di DIGO. Ad esempio, i casi di allargamento gengivale dopo l'uso cronico di acido valproico, carbamazepina, o fenobarbital in pazienti adulti sono stati segnalati, ma di raro riscontro o scarsamente documentati (Seymour et al., 1992; Dahlof et al., 1993; Gregoriu et al., 1996). Anche il Vigabatrin è un antiepilettico, di recente introduzione, che può causare una crescita eccessiva gengivale (Katz et al., 1997).

Calcio-antagonisti

I farmaci antipertensivi facenti parte del gruppo dei calcio-antagonisti sono ampiamente utilizzati nei pazienti anziani che soffrono di angina o di cardiopatie scleroipertensive periferiche (Marshall et al., 1999; Hallmon et al., 1999). Il numero totale delle prescrizioni annuali per questa classe di agenti ha continuato a crescere negli ultimi anni (Marshall et al., 1999). Primi casi di DIGO associati all'assunzione di nifedipina sono stati riportati dalla letteratura nei primi anni 80. È stata anche descritta l'associazione con farmaci come diltiazem, verapamil, e in rari casi con amilodipina e felodipina.

Immunosoppressori

La Ciclosporina A (CsA) è un potente immunosoppressore, ampiamente usato per la prevenzione dal rigetto di trapianti, nonché per la terapia di una serie di condizioni autoimmuni come l'artrite reumatoide (Grune & Stratton, 1988; Hassell et al., 1991). L'efficacia dell'utilizzo della CsA in medicina dei trapianti è stata limitata dallo sviluppo di fibrosi renale, cardiaca, e gengivale (Rateitschak-Pluss et al., 1983; Myers et al., 1991; Platt et al., 1983; Billingham et al., 1988). Le lesioni renali e cardiache possono essere così gravi da causare il fallimento del trapianto (Myers et

al., 1991; Platt et al., 1983; Billingham et al., 1988). La letteratura ha dimostrato l'associazione tra assunzione di CsA ed insorgenza di DIGO parallelamente alla pubblicazione dei primi risultati clinici (Calne et al., 1978).

PREVALENZA

La determinazione accurata dei tassi di prevalenza in ciascuna categoria di farmaci è estremamente difficile, a causa delle differenze nei tassi riportati in letteratura. Queste differenze possono essere dovute a numerosi fattori: alla diversa valutazione di DIGO dai medici prescrittori dei farmaci rispetto agli specialisti odontoiatri, ai diversi indici di proliferazione utilizzati per la valutazione, al tipo di paziente preso in considerazione, al tipo di condizione sistemica da trattare, all'età dei pazienti, alle eventuali terapie

Categoria	Molecola	Nome commerciale	Prevalenza
Anticonvulsivanti	Fenitoina	<i>Dilantin</i>	50%
	Acido Valproico	<i>Depakin</i>	Raro
	Fenibarbitalone	<i>Fenobarbital</i>	<5%
	Vigabatrin	<i>Sabril</i>	Raro
	Carbamazepina	<i>Tegretol</i>	Non riportato
Immunosoppressori	Ciclosporina-A	<i>Neoral</i>	Adulti 25-30% Bambini >70%
Ca ⁺⁺ antagonisti	Nifedipina	<i>Adalat</i>	6-15%
	Isradipina	<i>Esradin</i>	Non riportato
	Felodipina	<i>Prevex</i>	Raro
	Amilodipina	<i>Norvasc</i>	Raro
	Verapamil	<i>Isoptin</i>	<5%
	Diltiazem	<i>Altiazem</i>	5-20%

tabella 1: prevalenza dell'insorgenza di DIGO in relazione alla molecola assunta

concomitanti, al pregresso stato di salute parodontale. Sebbene vari notevolmente, la prevalenza di DIGO in pazienti ambulatoriali trattati con fenitoina è di circa il 50% (Casetta et al., 1997).

L'insorgenza di DIGO in pazienti adulti trattati con acido valproico è rara. Tuttavia, sono stati riportati casi di pazienti pediatrici (Marshall et al., 1999; Seymour et al., 1992; Ciancio et al., 1991). I tassi di prevalenza della nifedipina sono compresi tra il 15% e il 85% (Barak et al., 1987; Fattore et al., 1991; Ellis et al., 1999). Uno studio epidemiologico controllato ha rilevato che solo il 6% circa dei soggetti in terapia con nifedipina presentasse un quadro clinico di DIGO (Ellis et al., 1999). La prevalenza di DIGO indotta da verapamil, diltiazem, felodipina, e amilodipina è significativamente inferiore (Marshall et al., 1999; Ellis et al., 1999; Meller et al., 2002). Per quanto riguarda la CsA, anche se i tassi riportati variano, una revisione dei pochi studi controllati ha indicato un tasso tra il 25% ed il 30% (Myers et al., 1991; Boltchi et al., 1999; Fu et al., 1998). Tuttavia, pazienti pediatrici riceventi un trapianto cuore-polmone in terapia con CsA sembrano essere più suscettibili all'insorgenza di DIGO, con una prevalenza massima riportata del 97% (Kilpatrick et al., 1997).

FATTORI DI RISCHIO

Placca

La letteratura ha dimostrato una correlazione tra severità clinica della DIGO ed uno scarso controllo dell'indice di placca (Casetta et al., 1997), ed è commisurabile al grado di gengivite placca indotta (Addy et al., 1982; Daley et al., 1986; Barclay et al., 1992; Ellis et al., 1999; Nakou et al., 1998). L'importanza della placca come cofattore nell'eziologia della DIGO, sia per lo sviluppo che per l'espressione delle modifiche gengivali, è stato riconosciuto nel sistema di classificazione più recente della malattia parodontale (Armitage et al., 1999). In questa classificazione, la DIGO viene classificata come patologia gengivale placca indotta modificata da farmaci. A

sostegno di questo sistema di classificazione, la letteratura ha dimostrato la forte associazione tra l'accumulo di placca e DIGO indotta da CsA sia in un modello animale (Fu et al., 1997), sia in un ampio gruppo di pazienti in terapia con CsA in un modello di analisi a regressione multivariata (Thomas et al., 2000). Inoltre, è stato dimostrato che i pazienti presentanti un quadro di gengivite prima dell'inizio del trattamento CsA, presentino maggiori probabilità di sviluppare DIGO (Varga et al., 1998).

Le variazioni del contorno gengivale osservate nella DIGO possono essere aggravate dal quadro d'infiammazione locale indotto dalla placca, con conseguente gengiva edematosa ed iperemica (Glickman e Lewitus 1941). In questi casi, la rimozione della placca è di fatto resa più difficoltosa dai contorni distorti dei tessuti gengivali, perpetuando il ciclo.

Nonostante gli alti punteggi dell'indice di placca che possono essere osservati in pazienti affetti da DIGO, non ci sono prove che suggeriscono che i cambiamenti gengivali migliorino la progressione della malattia parodontale, e la prognosi dentale. Sia la fenitoina che la ciclosporina hanno proprietà immunosoppressive, e di conseguenza, possono proteggere il paziente contro il riassorbimento parodontale. I pazienti in terapia con fenitoina hanno meno perdita ossea, in relazione all'età e al sesso, dei pazienti che assumono sodio valproato (Seymour et al. 1985). Nonostante studi approfonditi, la patogenesi della DIGO è tuttora incerta, e il trattamento è in gran parte limitato al mantenimento di un sufficiente livello di igiene orale, ed alla rimozione chirurgica del tessuto in eccesso.

Altri fattori

Come la maggior parte delle malattie parodontali, un modello multifattoriale sembra spiegare meglio la presenza e la distribuzione di crescita eccessiva gengivale nei pazienti, in terapia con farmaci associati a questa condizione. Questo è stato illustrato in un studio di pazienti trattati con CsA, da cui non è stato possibile determinare la distribuzione di DIGO considerando esclusivamente il livello di placca e di infiammazione gengivale (Thomason et al., 1996). Altri fattori che influenzano lo sviluppo della DIGO sono il sesso, con un rapporto maschi:femmine di 3:1 (Ellis et al., 1999), l'età, inversamente proporzionata (Casetta et al., 1997; Kilpatrick et al.,

1997; Nakou et al., 1998). Anche se i dati del rapporto tra la gravità del quadro clinico ed il dosaggio di fenitoina, ciclosporina, e nifedipina siano conflittuali, la maggior parte degli studi non hanno riportato una significativa associazione con il dosaggio (Marshall et al., 1999; Pennarocha-Diago et al., 1990; Nery et al., 1995). La valutazione della tipizzazione tissutale in pazienti trapiantati ha dimostrato come i soggetti positivi al complesso HLA B37 abbiano una probabilità significativamente superiore di presentare un quadro di DIGO severo, mentre è vero il contrario in merito a pazienti positivi al complesso HLA-DR1 (Thomason et al., 1996; Cebeci et al., 1996).

Sono anche state riportate interazioni tra farmaci somministrati contemporaneamente. La terapia cronica con fenitoina ed altri agenti anticonvulsivanti sembra non influenzare il grado di DIGO nei pazienti epilettici adulti (Kamali et al., 1999). Tuttavia, la contemporanea assunzione di prednisolone o azatioprina in pazienti in terapia con CsA può modificare la gravità del quadro gengivale (Wilson et al., 1998). Pazienti in terapia sia con la CsA che con Calcio antagonisti presentano una DIGO clinicamente di maggior severità (Thomson JM et al., 1997). La scelta del farmaco Calcio antagonista usato in combinazione con la CsA può anche influenzare la prevalenza o gravità dell'allargamento gengivale. È stato riportato come la prevalenza della DIGO in soggetti che hanno subito un trapianto renale, in terapia con CsA e amlodipina, sia superiore a quelli trattati con CsA e nifedipina (James et al., 2000). In un modello animale sono stati osservati gli effetti di un trattamento combinato di CsA e nifedipina o diltiazem. È stato evidenziato come la CsA abbia un effetto sinergico maggiore con la nifedipina rispetto al diltiazem (Morisaki et al., 2000).

ETÀ

Studi clinici suggeriscono che i bambini e gli adolescenti sembrano più sensibili alla DIGO rispetto agli adulti (Esterberg & White 1945, Hefti et al. 1994). Questi studi sono limitati alla fenitoina e ciclosporina, poiché vi sono poche indicazioni per l'uso di calcio antagonisti in questo gruppo di età. Sebbene gli studi sugli animali abbiano confermato questi risultati (Kitamura et al. 1990, Morisaki et al. 1993), questi non

sono supportati da protocolli in vitro. I fibroblasti ottenuti da DIGO indotta da ciclosporina e fenitoina non hanno dimostrato un regressione età-dipendente della sintesi proteica e della produzione di collagene (Sobhani et al. 1989, Johnson et al. 1990). Il fallimento di queste indagini di coltura queste cellule, per confermare i risultati clinici, può essere correlato all'unico fenotipo dei fibroblasti, o all'influenza del metabolismo androgeno. Colture monostrato di fibroblasti gengivali possono facilmente metabolizzare testosterone marcato al metabolita attivo 5α-diidrotestosterone (5α-DHT). Quando la fenitoina viene aggiunta a tali colture vi è un aumento della formazione del metabolita (Sooriyamoorthy et al. 1988). Allo stesso modo, campioni tissutali asportati da gengive affette da DIGO indotta da nifedipina e ciclosporina dimostrano un simile aumento del metabolismo degli androgeni (Sooriyamoorthy et al. 1990). Da questi risultati si speculerebbe che un aumento del metabolismo androgeno nei fibroblasti gengivali potrebbe essere un fattore importante nella patogenesi della DIGO. I metaboliti androgeni attivi potrebbe "colpire" sottopopolazioni di fibroblasti gengivali e causare sia un aumento della sintesi di collagene e/o una diminuzione dell'attività della collagenasi. Tali cambiamenti nel metabolismo degli androgeni può spiegare la maggiore propensione di questo effetto indesiderato nei bambini e negli adolescenti.

PREDISPOSIZIONE GENETICA

Non tutti i pazienti in trattamento con fenitoina, ciclosporina o calcio antagonisti sviluppano DIGO. In effetti, i termini "rispondenti" e "non-rispondenti" sono apparsi in letteratura per identificare coloro che mostrare o non mostrano modifiche gengivali farmaco indotte. Tale suscettibilità interindividuale a questi cambiamenti gengivali potrebbe essere correlata a una predisposizione genetica. È ormai ampiamente riconosciuto che i fibroblasti gengivali dimostrino una eterogeneità funzionale in risposta a vari stimoli (Hassell et al. 1976). Da questo risultato, è stato dimostrato in seguito che la fenitoina (ed il suo principale metabolita pHPPH) potrebbe reagire con una sottopopolazione fenotipicamente distinta di fibroblasti gengivali e causare un aumento della sintesi proteica e un aumento del tasso di proliferazione cellulare (Hassell e Gilbert 1983, Foster & Hassell 1985). Risultati analoghi sono stati anche mostrati per la ciclosporina (Hassell et al. 1988) e per il suo

principale metabolita OL-17 (Jacobs et al. 1990). Un ulteriore supporto alla presenza di diverse sottopopolazioni di fibroblasti è stato fornito da studi su animali, dove l'induzione del tessuto gengivale con la ciclosporina in vivo ha portato ad un aumento dell'attività sintetica dei fibroblasti in vitro (Seibel et al. 1989). Studi culturali di gemelli monozigoti e dizigoti hanno confermato l'eterogeneità funzionale dei gengivali (Cockey et al. 1989). Colture accoppiate di gemelli dizigoti hanno mostrato tassi di divisione significativamente maggiori (<0.01) se confrontati con fibroblasti gengivali di gemelli monozigoti. Quando colture appaiate sono stati esposti alla fenitoina, gemelli monozigoti erano più simili rispetto ai gemelli eterozigoti per quanto riguarda la sintesi proteica (Cockey et al. 1987). La letteratura ha riportato anche una marcata eterogeneità di risposta dei fibroblasti gengivali alla ciclosporina e ai calcio antagonisti. I tassi di proliferazione cellulare sono stati segnalati aumentare (Coley et al. 1986, Zebrowski et al. 1986, Zebrowski et al. 1987, Zebrowski et al. 1988, Bartold 1989), diminuire (Sobhani et al. 1989), o rimanere invariati (Tipton & Dabbous 1986, Fan e Scott 1989, Salo et al. 1990, Hassell et al. 1991, Nishikawa et al. 1991, Schincaglia et al. 1992) per i ceppi di cellule diverse e per differenti concentrazioni del farmaco. L'effetto di questi farmaci sulla sintesi proteica appare mostrare una simile eterogeneità di risultati, sia un incremento (Coley et al. 1986, Zebrowski et al. 1986, Sobhani et al. 1989, Schincaglia et al. 1992) che in una diminuzione della sintesi proteica e del collagene (Coley et al. 1986, Zebrowski et al. 1986, Pernu et al. 1989, Salo et al. 1990, Barber et al. 1992), così è stato segnalato il fallimento dell'alterazione della sintesi (Bartold 1989, Hassell et al. 1991, Nishikawa et al. 1991, Barber et al. 1992). L'eterogeneità dei fibroblasti è stata anche valutata rispetto alla risposta collagenolitica alla ciclosporina (Tipton et al. 1991). In 14 diversi ceppi di fibroblasti gengivali ottenuti da individui sani, è stata determinata l'attività della collagenasi, e la metalloproteinasi tessuto inibente (TIMP), sia in condizioni basali che dopo esposizione a ciclosporina (0,1-0.75 $\mu\text{g/ml}$). I ceppi di fibroblasti mostrava variabilità interindividuale e tra i ceppi stessi nell'attività collagenasica sia nella produzione di collagenasi che di TIMP. Tali variazioni sono state osservate sia prima che dopo l'esposizione a ciclosporina. Questi risultati indicano che, come con la fenitoina, l'eterogeneità della risposta collagenolitica dei diversi ceppi di fibroblasti gengivali e delle loro sottopopolazioni al trattamento con ciclosporina può in parte spiegare la risposta gengivale variabile osservata in pazienti che assumono questo farmaco. È chiaro che

i farmaci inducenti la DIGO sono in grado di alterare il metabolismo dei fibroblasti gengivali umani.

Tutti 3 gruppi di farmaci che sono noti indurre DIGO sono metabolizzati da membri della famiglia di enzimi citocromo P450. Le diidropiridine e la ciclosporina sono metabolizzati dall'enzima glucocorticoide inducibile CYP3A4 (Guengerich et al. 1985, Kronbach et al. 1988), mentre la fenitoina viene metabolizzata principalmente dal CYP2C9 (Veronese et al. 1993). I geni Citocromo P450 mostrano un notevole polimorfismo, che si traduce in variazioni interindividuali dei livelli di attività enzimatica (Gonzalez 1992). Questa variazione ereditaria del metabolismo dei tre gruppi di farmaci può influenzare la risposta del paziente al farmaco in termini di predisposizione a sviluppare DIGO. Anche se i livelli di CYP3A4 mostrano una notevole variabilità interindividuale, i fattori genetici responsabili di questa variazione sono ancora poco chiari. Tuttavia, nel caso dell'enzima CYP2C9 metabolizzante la fenitoina, sono stati identificate varianti del gene che codificano proteine con ridotta capacità di metabolizzazione della fenitoina (Veronese et al. 1993).

Un'ulteriore prova che i fattori genetici possono influenzare la patogenesi della DIGO è stata riscontrata da indagini sull'espressione dell'antigene umano linfocitario (HLA) (Pernu et al. 1994). La frequenza d'espressione di HLA è stata determinata in un gruppo di pazienti uremici e riceventi trapianto di rene, 50 dei quali sono stati medicati con ciclosporina, un farmaco diidropiridinico, o la combinazione di entrambi. La coorte è stata suddivisa in pazienti che manifestavano DIGO o non. Il gruppo di pazienti con moderata o grave DIGO avevano una frequenza di espressione significativamente più bassa di HLA-DRI+, ed una frequenza superiore di HLA-DR2+, rispetto a quelli con poca o nessuna crescita. I pazienti che hanno espresso HLA-DR1+ apparivano beneficiare di un grado di protezione contro lo sviluppo di questo effetto indesiderato, mentre quelli che presentavano HLA-DR2 + hanno mostrato un aumentato rischio di DIGO. Resta da chiarire l'esistenza di un legame tra l'espressione di HLA, ed un fenotipo di fibroblasti gengivali. L'evidenza suggerisce che i fattori genetici assieme alla suscettibilità del paziente possano avere un ruolo importante nella patogenesi della DIGO. Una predisposizione genetica può influenzare una serie di fattori nelle interazioni farmaci, cellule e infiammazione placca indotta. Questi includono l'eterogeneità funzionale dei fibroblasti gengivali, l'attività collagenolitica (come

espresso da collagenasi e produzione di TIMP), il legame farmaco-recettore, il metabolismo dei farmaci, la sintesi del collagene e molti altri fattori. L'espressione dell'HLA può rivelarsi un utile marcatore genetico per l'identificazione di pazienti a rischio di sviluppo di DIGO.

MANIFESTAZIONI CLINICHE DI DIGO

Le prime manifestazioni cliniche di DIGO appaiono frequentemente tra 1 e 3 mesi dall'inizio del trattamento con il relativo farmaco (Meraw et al., 1998). Il quadro patologico inizia a manifestarsi a livello delle papille interdentali, ed è più frequente nel segmento anteriore del versante vestibolare (Marshall et al., 1999; Hallmonn et al., 2000). Gradualmente, possono formarsi lobulazioni gengivali, che possono apparire infiammate o più fibrotico in natura, a seconda del grado di infiammazione indotta dai fattori locali. L'allargamento fibrotico è normalmente confinata alla gengiva aderente, ma può estendersi coronalmente ed interferire con la masticazione, con l'estetica, o con l'eloquio (Marshall et al., 1999; Hallmonn et al., 2000). Lo stato attivo di DIGO non solo è esteticamente sgradevole, ma altera spesso l'alimentazione e l'accesso per l'igiene orale, con un conseguente aumento della suscettibilità alle infezioni del cavo orale, alla malattia cariosa, ed alla malattia parodontale (Hassell et al., 1991).

La maggior parte delle forme di DIGO sono clinicamente imprescindibili dal tipo di farmaco che ne ha determinato la genesi, con le eccezioni del fenobarbitone (Gregoriou et al., 1996) e della CsA (Seymour et al., 1992). Nei pazienti trattati con fenobarbitone, la gengiva risulta ipertrofica in modo uniforme senza lobulazioni delle papille interdentali. Inoltre, il quadro patologico si manifesta in maniera più esacerbante nei settori posteriori rispetto alle regioni anteriori (Gregoriou et al., 1996). In individui immunodepressi in terapia con CsA, talvolta appaiono lesioni papillari sulla superficie delle lobulazioni, associate a sovrainfezione di *Candida* (Khoct et al., 1997; Payne 1997). Alcuni lavori hanno riportato che tessuti affetti da DIGO associata alla CsA sono generalmente maggiormente iperemici e sanguinanti al sondaggio di tessuti ipertrofici associati a terapia con fenitoina (Seymour et al., 1992).

ISTOPATOLOGIA

Uno studio ultrastrutturale ha dimostrato che l'aumento del volume del tessuto gengivale sia principalmente causato da una reazione del tessuto connettivale piuttosto che dello strato epiteliale (Mariani et al., 1993). L'istopatologia delle lesioni in tutte le categorie di farmaci è simile ed è caratterizzata da un eccessivo accumulo extracellulare di proteine della matrice, come collagene, o di sostanze amorphe (Marshall et al., 1999; Dongari et al., 1993; Hallmon et al., 2000). Sono determinabili vari gradi di infiltrato infiammatorio esistono, mentre un aumento del numero dei fibroblasti rimane controverso (Wysocki et al., 1983; Rostock et al., 1986; Santi et al., 1998). L'infiltrato infiammatorio maggiormente rappresentato è dato dalle plasmacellule. Un epitelio paracheratinizzato di spessore variabile copre lo stroma connettivale, e creste epiteliali possono penetrare in profondità nel tessuto connettivo, creando fibre collagene irregolarmente disposte (Mariani et al., 1993).

Le caratteristiche istopatologiche delle varie forme di DIGO sono simili, indipendentemente dal farmaco. Differenze legati al farmaco sono state descritte solo quando le analisi immunistochemiche, tecniche di colorazione, o la microscopia elettronica sono state impiegate. L'esame al microscopio elettronico della DIGO è concentrata principalmente sulla forma indotta da ciclosporina. I fibroblasti gengivali in tessuti affetti da DIGO indotta da ciclosporina mostrano caratteristiche di sintesi e secrezione proteica attiva, con ridotte variazioni citotossiche o degenerative. È stata riscontrata una percentuale aumentata di cellule contenenti bande di microfilamenti con nodi densi semiperiodici, rientranze nucleari e cellule associate alla lamina basale con giunzioni stromali (Yamasaki et al. 1987). Il termine miofibroblasti è stata applicato a tali cellule. Tali "fibroblasti modificati" sono stati trovati in diverse condizioni patologiche caratterizzate da fibroplasia. È concepibile che cambia fibroblasti m gengivali può essere una reazione indotta da farmaco alla placca indotta infiammazione, o entrambi.

Risultati di altri studi ultrastrutturali hanno suggerito che la DIGO indotta da ciclosporina sia una conseguenza di ipersensibilità individuale al farmaco (Deliliers et al. 1986, Mariani et al, 1993). Questa ipotesi è basata sulla scoperta di abbondante sostanza amorfa rispetto al materiale fibroso, ed un marcato infiltrato plasmacellulare nei tessuti gengivali. Ciò suggerisce che gli individui atopici possano essere più

suscettibili sviluppare DIGO. Ma è un'osservazione che deve ancora essere dimostrata.

Vi è una notevole evidenza epidemiologica che l'infiammazione gengivale placca indotta aggravi l'espressione della DIGO (Daley et al, 1986, McGaw et al. 1987, Barclay et al. 1992, Pernu et al. 1992, King et al 1993, Thomason et al 1993. Bullon et al 1994, Somacarrera et al 1994). Inoltre, molti studi suggeriscono che misure ottimali di igiene orale inibiscano lo sviluppo e la reiterazione della proliferazione gengivale (O'Neil & Figures 1952, Modeer & Dahllof 1987, Seymour & Smith 1991). Si può sostenere che i cambiamenti infiammatori indotti dalla placca all'interno del tessuto gengivale migliorino l'interazione tra il farmaco e i fibroblasti gengivali. Possibili meccanismi sia a livello cellulare che molecolare sono ormai stati postulati sostenere la componente interattiva. Anche in questo caso, la ciclosporina ha generato rinnovato interesse in questo settore, a causa delle sue proprietà immunosoppressive selettive, e la capacità di inibire la produzione di interleuchine. Le citochine di ultima generazione sono potenti stimolatori della produzione di collagenasi da fibroblasti (Postlethwaite et al. 1983).

In un singolo case report (Savage et al. 1987), che documenta l'istopatologia e l'immunoistopatologia della DIGO indotta da ciclosporina, è stato dimostrato che la risposta tissutale era correlabile con la farmacodinamica della ciclosporina. Il tessuto conteneva un significativo complemento di cellule immunocompetenti dominate da aggregati plasmacellulari, macrofagi e cellule T helper. Tuttavia, questi ultimi non esprimevano recettori di membrana per l'IL-2. È stato suggerito che i cambiamenti indotti dai farmaci nelle cellule T insieme all'elevato numero di macrofagi, possono essere strumentali per l'avvio di una "risposta iperplastico fibrosa".

Studi su co-culture sono stati utilizzati per approfondire lo studio dell'interazione tra l'attività dei fibroblasti gengivali indotti da ciclosporina e vari linfociti supernatanti ottenuti da colture di linfociti autologhi (Hassell et al. 1988), Colture di fibroblasti gengivali ottenute da 6 volontari sono state incubate con varie combinazioni di ciclosporina e fitoemagglutinina contenute all'interno dei supernatanti derivati dalle colture di linfociti. È stata segnalata una marcata variazione nelle colture rispetto alla produzione di proteine e produzione proteine digeribili da collagenasi tra le varie linee cellulari. Tale variazione può essere attribuibile a eterogeneità fibroblastica, o alla sensibilità delle popolazioni di linfociti al farmaco. Gli autori hanno concluso che la suscettibilità di un paziente affetto da DIGO indotta da ciclosporina può essere

correlata a popolazioni geneticamente determinate di entrambi i linfociti e fibroblasti sensibili al farmaco. Così, quando tutti e tre i fattori sono presenti, nel tessuto connettivo esiste un potenziale perturbante l'omeostasi che può provocare crescita eccessiva.

La fenitoina possiede anche proprietà immunosoppressive (Sorrell et al, 1971, Seager et al. 1975. Masi et al. 1976) che ha portato alle indagini nelle sottopopolazioni di linfociti in casi di DIGO indotta da fenitoina (Dahllof et al. 1986). In uno studio comparativo, si è evidenziata una maggiore espressione di cellule mononucleate nel tessuto gengivale affetto da DIGO indotta da fenitoina, rispetto ad un tessuto di controllo sano o infiammato. Gli anticorpi monoclonali hanno mostrato la seguente distribuzione cellulare: 69-95% linfociti-T, 50-64% linfociti T-helper, 29-46% linfociti T-suppressor/cellule citotossiche. Le plasmacellule sparse nel fenitoina indotto gengivale over-la crescita dei tessuti rispetto al controllo. Questi risultati hanno portato gli autori a ipotizzare che l'infiltrazione selettiva dei linfociti T sostenerebbe un cellule T mediato Immunological che possono svolgere un ruolo nella patogenesi - genesi della crescita eccessiva gengivale. Anche il numero di cellule di Langerhans aumenta nell'epitelio gengivale in pazienti affetti da DIGO indotta da fenitoina (Kinane et al. 1990). La relazione tra tale aumento e la gravità della DIGO è speculare. È stato dimostrato che un aumento di IL-1 è correlato ad un aumento di cellule di Langerhans nella gengiva cronicamente infiammata (Walsh et al, 1988). IL-1 può stimolare la proliferazione di fibroblasti in presenza di fattori di crescita primari, così come la DIGO indotta da fenitoina e l'aumento di cellule di Langerhans possono essere mediati dall'interazione tra IL-1 e fattori di crescita.

Le specifiche e selettive proprietà immunosoppressive della ciclosporina ha suscitato interesse nel tipo di infiltrazione linfocitaria nelle forme di DIGO indotte da ciclosporina. I primi studi hanno riferito che il tipo cellulare predominante dell'infiltrato era la plasmacellula, con un numero inferiore di linfociti (Deliliers et al. 1986). Una caratterizzazione dettagliata delle cellule mononucleate ha mostrato linfociti T e monociti adiacenti all'epitelio giunzionale, senza presenza linfocitaria (Venskopp et al. 1986). Non è chiaro se l'infiltrato mononucleare sia legato all'allargamento gengivale indotto dalla ciclosporina, alla presenza di gengivite o a entrambi.

Un ulteriore studio comparativo ha nuovamente verificato la presenza di sottoinsiemi ciclosporina e leucociti nel tessuto gengivale ottenuti da pazienti sottoposti a

trapianto renale (O'Valle et al. 1994). L'analisi immunoistochimica dei tessuti gengivali ha mostrato un numero significativamente più alto di elementi della linea monocito/macrofagica (CD68), di cellule plasmacitoidi e di linfociti-T totali(CD3) nei pazienti trattati con ciclosporina rispetto a tessuti gengivali di pazienti sani. Differenze sono state rinvenute anche nei linfociti-T induttori/helper (CD4) e nei linfociti-T citotossici/soppressori di T-(CD8). Allo stesso modo, il rapporto CD4/CD8 è risultato maggiore nei pazienti trattati con ciclosporina rispetto al controllo. Il grado di DIGO sembra essere in relazione ad un incremento di sottopopolazioni di leucociti CD4+ e CD68 +, con un aumento di CD45+, l' antigene leucocitario comune. Gli autori hanno anche riscontrato depositi intraepiteliali di ciclosporina, che correlati al grado di DIGO ed ai depositi locali di farmaco erano in relazione all'infiltrato infiammatorio leucocitario CD4+, CD8+ e CD68+. Questi risultati suggeriscono che le popolazioni locali di sottoinsiemi leucocitari possano giocare un ruolo patogenetico nello sviluppo della DIGO. Tali cellule possono orchestrare fattori infiammatori locali indotti dalla placca, in particolare la modulazione delle linfocine, che possono esercitare un'azione diretta fibrogenica.

I locali depositi intraepiteliali di ciclosporina necessitano di un commento ulteriore. E 'stato dimostrato che la placca dentale può fungere da serbatoio per la ciclosporina (McGaw et al. 1987, Niimi et al 1990) che può fornire una "fonte locale" per i depositi intraepiteliali del farmaco. Gli effetti locali di ciclosporina possono spiegare la soppressione delle risposte immunitarie nel tessuto gengivale in pazienti che mostrano un quadro di DIGO indotta da ciclosporina (Niimi et al. 1990). Tessuti gengivali patologici indotti da ciclosporina, da fenitoina e non specifici gengiva infiammatoria sono stati esaminati immunoistochimicamente per valutare la differente espressione dell'Antigene Maggiore di Istocompatibilità di Classe II dai cheratinociti e dalle cellule di Langerhans, la sintesi di IL-1, l'infiltrazione di cellule-T e la DNA polimerasi- α presente nei cheratinociti. Tecniche di colorazione comparative tra i tre tipi di tessuto hanno dimostrato che le risposte immunitarie apparivano sopresse nello strato epiteliale delle gengive affette da DIGO indotta da ciclosporina attraverso l'ipoespressione delle cellule epiteliali dendritiche Leu-6 +, anche se il rapporto di queste ultime cellule con le cellule epiteliali dendritiche HLA - DR + rimanesse invariato. Gli autori suggerivano che la risposta immunitaria sembrasse essere soppressa nello strato epiteliale gengivale attraverso una diminuzione della Leu-6 +, dell'HLA - DR + delle cellule dendritiche epiteliali, e

delle cellule T, a causa di infiltrazioni di ciclosporina nella placca. Il numero di queste cellule è significativamente inferiore nelle forme di DIGO indotte da ciclosporina rispetto a quelle indotte da fenitoina, confermando l'osservazione da Kinane (Kinane et al. 1990). Tessuto di DIGO indotto da ciclosporina o fenitoina presentava meno DNA polimerasi α nei cheratinociti basali rispetto ai tessuti controllo. Questi risultati suggeriscono che l'acantosi epiteliale osservata nelle DIGO indotte da ciclosporina e fenitoina possa essere dovuta a un prolungato periodo di vita cellulare dei cheratinociti, piuttosto che ad un aumento della proliferazione dei cheratinociti (Niimi et al. 1990).

Le prostaglandine possono anche svolgere un ruolo nella patogenesi della DIGO indotta da fenitoina (Modeer et al, 1992). In una serie di esperimenti su colture cellulari, la formazione di prostaglandina E_2 è stata studiata in fibroblasti gengivali derivati da 3 pazienti, prima e dopo 9 mesi di terapia con fenitoina. Quando le colture cellulari sono state incubate con interleuchina- 1α , β e tumor necrosis factor α , si è riscontrata una stimolazione dose dipendente di formazione di PGE_2 . Tuttavia, la formazione di PGE_2 era significativamente più alta nei fibroblasti dopo 9 mesi di terapia con fenitoina rispetto a quelli prima del trattamento. Questi risultati suggeriscono che la terapia di fenitoina determini una sovraregolazione della produzione di prostaglandine nei fibroblasti gengivali. Tale upregulation potrebbe causare un aumento della sintesi di glicosaminoglicani che può comportare una modifica della matrice extracellulare gengivale (Karlinsky & Goldstein 1989).

In un tentativo di ricreare l'infiammazione gengivale indotta dalla placca in un modello di coltura tissutale, è stato indagato l'effetto diretto dei lipopolisaccaridi batterici sui modelli di coltura tissutale. Il lipopolisaccaride è un importante componente della parete cellulare batterica, noto anche per le proprietà citotossiche per linee cellulari di fibroblasti (Horiba et al, 1989). La ciclosporina, in presenza di lipopolisaccaridi in concentrazione che normalmente inibirebbe la proliferazione di fibroblasti, ha mostrato di neutralizzare l'effetto inibitorio del lipopolisaccaride, mantenendo la capacità da parte del farmaco di stimolare la proliferazione dei fibroblasti (Bartold 1989). In un ulteriori studio, la sintesi di proteine totale dei fibroblasti isolati da DIGO indotta da ciclosporina è stata inibita dai lipopolisaccaridi, ma di nuovo, questo è stata nuovamente indotta con l'aggiunta di ciclosporina a questo sistema (Barber et al, 1992). È stato suggerito che il rapporto tra una manifestazione clinica grave di DIGO e aree di elevata ritenzione di placca

può essere spiegato con la capacità della ciclosporina di bloccare l'effetto inibitorio dei lipopolisaccaridi sui fibroblasti gengivali (Bartold 1989).

Sembrerebbe dalle colture cellulari e dai vari studi di immunistochemica che i cambiamenti infiammatori della placca indotti abbiano un ruolo importante nella patogenesi della DIGO. L'evidenza suggerisce che nessun singolo fattore (sia cellulare che molecolare) può essere considerato fondamentale nell'espressione della DIGO. Dal momento che la placca può indurre numerose alterazioni infiammatorie nei tessuti gengivali, sembrerebbe che i mediatori e le cellule coinvolte potrebbero modulare l'interazione tra i fibroblasti ed il farmaco.

PATOGENESI

Ruolo dei fibroblasti

Il meccanismo attraverso cui i farmaci scatenano una risposta del tessuto connettivo gengivale è ancora poco conosciuto. Poiché solo un sottoinsieme di pazienti trattati con questi farmaci sviluppa DIGO, è stato ipotizzato che tali individui abbiano un'anormale suscettibilità al farmaco da parte dei fibroblasti. È stato dimostrato come i fibroblasti di tessuti gengivali ipertrofici in pazienti trattati con fenitoina siano caratterizzati da livelli elevati di sintesi proteica, in particolare collagene (Hassell et al., 1976). Tuttavia, uno studio comparativo tra le lesioni intraorali e stati di fibrosi in siti extraorali non ha evidenziato correlazioni tra la severità di DIGO e la comparsa di lesioni fibrotiche extraorali (Montebugnoli et al., 1999). Pertanto la DIGO non può essere considerata una conseguenza di un'iperattività fibroblastica sistemica e/o genetica. Un limite di questo studio è che le conclusioni sono basate su un esame dei tessuti extraorali solamente macroscopico (Montebugnoli et al., 1999).

È stato proposto che la suscettibilità alla DIGO possa essere governata dalla presenza di proporzioni differenziali di sottoinsiemi di fibroblasti che presentano una risposta fibrogenica ai farmaci (Hassell et al., 1976; Sinha-Morton et al., 1999). A sostegno di questa ipotesi, è stata dimostrata l'esistenza di una eterogeneità funzionale dei fibroblasti gengivali in risposta a vari stimoli (Hassell et al., 1976; Dongari-Bagtzoglou et al., 1998). È stato inoltre dimostrato che la CsA potrebbe reagire con una sottopopolazione di fibroblasti gengivali fenotipicamente distinta inducendo sintesi proteica (Hassell et al., 1988; Mariotti et al., 1998).

Ruolo delle citochine infiammatorie

Un aumento sinergico della sintesi proteica da parte dei fibroblasti gengivali è stata riscontrata quando queste cellule sono stati esposte contemporaneamente a nifedipina ed interleuchina-1 β (IL-1 β), una citochina proinfiammatoria presente in tessuti gengivali infiammati (Johnson et al., 2000). Oltre all'IL-1 β , anche l'interleuchina 6 (IL-6) può giocare un ruolo nelle risposte fibrogeniche della gengiva (Williamson et al., 1994). Una caratteristica istologica delle lesioni gengivali indotte da CsA è l'elevata espressione di IL-6 delle cellule connettivali del tessuto gengivale (Williamson et al., 1994). IL-6 appare colpire le cellule del tessuto connettivo come i fibroblasti, sia migliorando la proliferazione che esercitando una regolazione positiva sulla sintesi del collagene e dei glicosaminoglicani (Duncan et al., 1991). Pertanto, questa citochina è stata ritenuta svolgere un ruolo patogenetico nelle malattie fibrotiche come la fibrosi polmonare e gengivale (Gregoriou et al., 1996; Sinha-Morton et al., 1999). Studi in vitro hanno evidenziato come i fibroblasti derivati da una DIGO indotta da CsA secernano livelli di IL-6 maggiori rispetto alla gengiva infiammata o normale (Myrillas TT et al., 1999). Inoltre, la ciclosporina, nifedipina e fenitoina hanno un effetto sinergico con IL-1 β nell'indurre ulteriormente la secrezione di IL-6 da parte dei fibroblasti del tessuto gengivale (Sinha-Morton et al., 1999).

Ruolo delle metalloproteinasi della matrice (MMP)

Poiché la maggior parte dei tipi di agenti farmacologici implicata nella DIGO può avere effetti negativi sul flusso di ioni calcio attraverso le membrane cellulari, è stato postulato che tali agenti possono interferire con la sintesi e la funzione delle collagenasi (Hassell et al., 1982). A sostegno di questa ipotesi, un recente studio in vitro ha dimostrato che i fibroblasti gengivali umani trattati con dosi rilevanti di Ciclosporina mostrano livelli significativamente ridotti di secrezione di MMP-1 e MMP-3; questi livelli ridotti possono contribuire all'accumulo di componenti della matrice extracellulare (Bolzani et al., 2000). Questi risultati sono stati ulteriormente supportati da uno studio su animali che ha mostrato bassi livelli di mRNA delle collagenasi in situ, accompagnati da una diminuzione della fagocitosi e degradazione del collagene (Kataoka et al., 2000).

Variabili farmacocinetiche

Il rapporto tra l'incidenza e la gravità di DIGO con la farmacocinetica dei farmaci inducenti rimane una questione controversa (Seymour & Heasman 1988, Seymour e Jacobs 1992).

Sembrerebbe che una certa soglia di concentrazione del farmaco o dei suoi metaboliti sia necessaria per attivare i fibroblasti gengivali. Tale effetto soglia è stato postulato da Daley et al. (1986), che suggerisce che, l'aumento di livelli di farmaco sopra il valore soglia, non aumenti la severità della lesione. I cambiamenti nella gravità sarebbero pertanto dovuti ad altri fattori. Un rapporto diretto tra la concentrazione di fenitoina salivare e la crescita eccessiva gengivale è stato dimostrato in pazienti epilettici istituzionalizzati (Babcock & Nelson 1964). Risultati simili sono stati indicati tra la concentrazione di ciclosporina nella saliva stimolata e l'entità della crescita eccessiva gengivale (McGaw et al. 1987, Hefti et al. 1994). Al contrario, la mancanza di correlazione tra livelli di ciclosporina in saliva non stimolata e insorgenza di DIGO è stata riportata (King et al. 1993). La possibilità che la placca dentale possa fungere da serbatoio per la ciclosporina, rilasciata dall'azione del flusso salivare stimolato, potrebbe spiegare i risultati contrastanti riportati (McGaw et al. 1987, King et al. 1993). È stato anche proposto un ruolo per la placca dentale come serbatoio per la fenitoina nella patogenesi della DIGO (Steinberg 1980). Le concentrazioni di ciclosporina nella placca dentale hanno dimostrato di essere superiori a quelle trovate nel sangue e negli altri tessuti. È stato riportato che l'esposizione della mucosa orale alla ciclosporina era di circa 130 volte maggiore quando il farmaco è stato somministrato in sciroppo rispetto a forma di capsula (Modeer et al. 1992). Se la placca agisce come un serbatoio per la ciclosporina, allora queste osservazioni possono essere particolarmente pertinenti.

Recentemente l'attenzione si è concentrata sulle concentrazioni di farmaco nel fluido gengivale crevicolare (GCF). Dal momento che questo fluido è prodotto localmente, qualsiasi differenza fra le concentrazioni nel plasma e GCF può essere riflesso dell'attività tessuto locale. È stato dimostrato che sia la nifedipina che l'amilodipina possono essere riscontrate nel GCF, ed una significativa concentrazione dei farmaci risulta in pazienti che mostrano eccessiva crescita gengivale (Ellis et al. 1992, Seymour et al. 1994). Il meccanismo di tale sequestro e il suo rapporto con le modifiche gengivali rimane incerto. Il sequestro di nifedipina nel GCF sembra essere correlato alla patologia parodontale locale, in particolare il grado d'inflammazione

gingivale (Ellis et al. 1995). Le concentrazioni locali dei vari farmaci nel GCF, nella placca, o nel tessuto asportato in vaso possono fornire informazioni pertinenti per l'espressione e la patogenesi della proliferazione gengivale.

Alterazioni indotte dai farmaci dell'omeostasi del tessuto connettivo gengivale

La caratteristica essenziale di tutte le forme di DIGO è un incremento nella matrice del tessuto connettivale, pertanto cambiamenti indotti da farmaci nell'omeostasi tissutale è un argomento che è stato ampiamente studiato. Tali studi possono essere comodamente divisi in quelli indaganti la produzione di collagene e quelli indaganti il suo metabolismo.

La produzione di collagene da fibroblasti gengivali è controllata dalla coordinazione dei meccanismi regolatori di trascrizione e post-sintesi del collagene, tra cui la degradazione intracellulare. Quest'ultima è controllata dalla sintesi e rilascio di metalloproteinasi e inibitori tissutali di metalloproteinasi (TIMPs). Analisi istometriche di DIGO indotta da fenitoina hanno mostrato che la lesione è caratterizzata da un aumento della "crescita fisiologica" (il rapporto tra cellule e la matrice rimane la stessa), al contrario di una iperplasia (da cui l'utilizzo del termine overgrowth (Hassell et al. 1978)). Ciò è stato confermato da ulteriori studi che hanno dimostrato che l'esposizione di fibroblasti gengivali alla fenitoina aumenta il livello di tRNA (Benveniste & Bitar 1980). La sovrapproduzione di collagene da parte dei fibroblasti gengivali nella DIGO indotta da fenitoina comporta un aumento dei livelli di mRNA del collagene e non una diminuzione della sua degradazione (Narayanan et al. 1988).

Studi su colture cellulari hanno dimostrato che la matrice extracellulare prodotta dai fibroblasti nei casi di DIGO indotta da fenitoina ne facilitino un ulteriore sviluppo. Quest'ultimo è un prerequisito per la crescita (Modeer et al. 1988). Il costituente della matrice extracellulare che facilita la diffusione dei fibroblasti gengivali ed il loro sviluppo non è stato chiarito, ma potrebbe essere un prostanoide all'origine. Entrambe le affermazioni aggiungono un ulteriore supporto alla tesi dell'importanza dell'eterogeneità dei fibroblasti e dei mediatori dell'infiammazione nella patogenesi della DIGO.

Studi su colture cellulari sono stati utilizzati per valutare gli effetti di fenitoina e nifedipina sull'espressione genica del collagene nei fibroblasti gengivali. Questi studi hanno prodotto risultati contrastanti (Salo et al. 1990. Shikata et al. 1993). I fibroblasti gengivali da pazienti sani sono stati incubati con concentrazioni variabili

di nifedipina (100 e 200 ng/ml) e fenitoina (5-10 µg/ml) (Salo et al. 1990). Dopo 7 giorni, entrambi i farmaci avevano determinato una riduzione della sintesi delle proteine totali e del collagene nelle culture. In aggiunta, il livello di mRNA per il collagene di tipo I era anche diminuito, mentre il livello di mRNA per la collagenasi di tipo I era inalterato. Per contro, un più recente studio controllato ha valutato l'espressione dei geni del collagene di tipo IV e il tipo di distribuzione del collagene IV in tessuti e linee cellulari ottenute da pazienti affetti di DIGO indotta da nifedipina o fenitoina. L'analisi immunocitochimica e con Northern blot ha mostrato un aumento della deposizione di collagene di tipo IV e una maggiore espressione dei suoi geni. Tale incremento può essere determinante per l'espressione della DIGO indotta da fenitoina e nifedipina (Shi-kata et al. 1993).

I risultati di questi 2 studi mostrano che sia fenitoina che nifedipina potrebbero alterare in modo differenziale l'espressione del collagene sia di tipo I che di tipo IV. Dal momento che il collagene di tipo IV sembra resistente sia alla collagenasi batterica che a metalloproteinasi della matrice, resisterebbe nel tessuto anche in situazione di infiammazione gengivale placca indotta (Romanos et al. 1993).

Altri studi in vitro hanno dimostrato che la ciclosporina provoca una significativa incremento della sintesi di collagene in colture di fibroblasti gengivali, ma non una sintesi di DNA (Schincaglia et al. 1992). In particolare, i cambiamenti indotti dalla ciclosporina sono correlati ad un aumento del livello di procollagene di tipo I. Gli effetti del farmaco sui fibroblasti determina un aumento dell'mRNA del procollagene di tipo I, indicando un'augmentata sintesi associata ad un'augmentata secrezione. A livello molecolare, l'effetto della ciclosporina su fibroblasti gengivali rimane incerta. Il farmaco potrebbe agire attraverso uno specifico recettore di membrana o tramite ciclofilina, una proteina citoplasmatica che è stata identificata essere il recettore cellulare per la ciclosporina (Harding et al. 1986, Ryffel et al. 1992). Entrambi i meccanismi potrebbero potenzialmente causare un aumento dell'espressione procollagene.

I vari studi sulle colture cellulari suggeriscono che l'azione indotta da un farmaco sull'espressione genica per la sintesi del collagene possa essere un fattore importante nella patogenesi della DIGO. Tuttavia, nessun modello chiaro emerge. Questo può essere correlato alla differenza di tecniche di coltura e saggi, o per l'eterogeneità dei fibroblasti gengivali impiegati nelle colture.

Matrice non collagenica

Le indagini sulla matrice non collagenica (glicosaminoglicani e proteoglicani) delle varie forme di DIGO può fornire una visione dei possibili meccanismi patogenetici del fenomeno. È stato stimato che la matrice non collagenica costituisca il 20% del peso secco del tessuto gengivale in pazienti in terapia con fenitoina, e solo il 7% nel tessuto normale (Ballard & Butler 1974). I pazienti in terapia cronica con fenitoina hanno livelli significativamente aumentati di esosamina, acido uronico e proteine totali per peso umido di tessuto rispetto ai controlli (Goultschin et al. 1983). Altri studi hanno dimostrato come il tessuto connettivo in gengive affette da DIGO indotta da fenitoina abbia una densità di volume notevolmente superiore nella matrice non collagenica rispetto alla matrice collagenica (Dahllof et al. 1984). Un'ulteriore indagine del contenuto di proteoglicani e glicosaminoglicani nei tessuti ha confermato questo risultato (Dahllof et al. 1986). È incerto che la maggiore quantità di glicosaminoglicani nella DIGO indotta da fenitoina sia dovuta ad un'aumentata sintesi od a una ridotta degradazione. Tuttavia, è stato riportato che le colture di fibroblasti gengivali di pazienti affetti da DIGO sintetizzano una maggiore quantità di glicosaminoglicani solforati (Kantor e Hassell 1983).

L'effetto di ciclosporina e nifedipina sulla matrice non collagenica è stata studiata per quanto riguarda l'utilizzo dell'³H-glicosamina (Zebrowski et al 1994.). Quest'ultima è incorporata in glicosaminoglicani sia solfatati che non solfatati. I fibroblasti ottenuti da un paziente affetto da DIGO, secondaria sia a terapia con nifedipina che con ciclosporina, metabolizzano l'³H-glicosamina diversamente rispetto a quelli esposti a ciclosporina in vitro e a fibroblasti gengivali normali. L'estrapolazione di questi risultati in una situazione in vivo suggerirebbe che sia la ciclosporina che la nifedipina potrebbero causare un aumentato livello tissutale di glicosaminoglicani non solfatati.

Alterazione del metabolismo del tessuto connettivo

I primi studi in vitro hanno dimostrato che la DIGO indotta da fenitoina può essere più legata alla mancata degradazione di collagene rispetto a un suo incremento nella produzione (Goultschin & Shoskan 1980). Questo risultato è stato ulteriormente supportato da elementi di prova che i fibroblasti in pazienti affetti da DIGO indotta da fenitoina producano una collagenasi inattiva, favorendo la deposizione di collagene.

A supporto di questa ipotesi, uno studio comparativo sugli effetti della ciclosporina, nifedipina e fenitoina sull'attività della collagenasi nei fibroblasti gengivali in condizioni di normalità (Zebrowski et al. 1988). L'attività collagenasica, come misurato dal degrado di C¹⁴-collagene, viene aumentata dalla nifedipina, diminuita dalla fenitoina e non influenzata dalla ciclosporina. Ciò suggerisce che un'inibizione farmaco indotta della collagenasi non è un'ipotesi unificante che colleghi insieme tutti e tre i farmaci che causano la DIGO. Numerosi lavori, (Dabbous et al 1986; Tipton e Dabbous 1986; Tipton et al 1987; Tipton e Dabbous 1989; Tipton et al., 1991) hanno dimostrato che fibroblasti gengivali siano eterogenei per le loro capacità di sintetizzare collagenasi e TIMP, sia in presenza che in assenza di ciclosporina, essendo la risposta variabile correlata alle differenti sottopopolazioni di fibroblasti. Gli autori hanno concluso che un aumento indotto da farmaci nella sintesi di TIMP sia più significativo che una diminuzione dell'attività della collagenasi. In sintesi, ci sono molti aspetti dell'omeostasi del tessuto connettivo che possono servire come "obiettivi" per indurre i farmaci a causare la crescita eccessiva. Se alcuni dei risultati in vitro sono contraddittori, la differenza può essere correlata alla eterogeneità dei fibroblasti gengivali. Inoltre, l'estrapolazione dei risultati in vitro per lo scenario clinico può essere pieno di problemi. Ciò che spesso manca in studi in vitro è la componente infiammatoria che appare orchestrare l'interazione tra farmaco e fibroblasti gengivali.

Azioni farmaco indotte sui fattori di crescita

In anni recenti, tecniche biologiche cellulari e molecolari hanno chiarito una varietà di fattori di crescita che controllano l'omeostasi del tessuto connettivo. Tali fattori di crescita sono obiettivi ovvi per i farmaci e la loro attivazione può essere importante nella DIGO. Gli studi svolti fino ad oggi si sono concentrati sul farmaco fenitoina, e la sua interazione con il fattore di crescita epidermico (EGF) ed il fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF),

In un primo studio (Modeer et al, 1990), è stato studiato l'effetto della fenitoina sul metabolismo dei recettori dell'EGF in una cultura gengivale di fibroblasti. Le cellule sono state ottenute da 2 pazienti (di cui uno responder, l'altro un non-responder) prima e dopo 9 mesi dall'inizio della terapia con fenitoina. I fibroblasti sono stati studiati in coltura, per valutare l'effetto dell'azione dell'EGF sulla incorporazione della ³H-timidina nel DNA, del legame di EGF al suo recettore di superficie

cellulare, della internalizzazione del recettore-ligando di EGF, e dei livelli di mRNA del recettore di EGF. I fibroblasti dei 2 pazienti non hanno mostrato alcuna differenza nell'affinità al recettore per EGF. Tuttavia, i pazienti responder hanno mostrato un aumento sia internalizzazione del complesso recettore-ligando di EGF, e uno stato di equilibrio di mRNA del recettore di EGF dopo la terapia con fenitoina, mentre nei non-responder è stata osservata una diminuzione di entrambi i fattori. Questi risultati suggeriscono che la fenitoina provoca una down regulation del metabolismo dei recettori per EGF nei pazienti responder, mentre una up-regulation nei non-responder. In un ulteriore studio dello stesso gruppo (Modeer & Andersson 1990), normali fibroblasti gengivali derivati da soggetti pediatrici sono stati incubati con EGF, da solo, o in combinazione con fenitoina. Le colture cellulari sono state successivamente valutate per la sintesi del DNA, per il legame di EGF al suo recettore di superficie cellulare e l'internalizzazione del complesso recettore-ligando di EGF. Sia EGF che la fenitoina hanno causato un aumento della sintesi del DNA. In aggiunta, la fenitoina ha determinato un aumento significativo nel numero di recettori di EGF. Pertanto la fenitoina, causando l'aumento del numero di recettori per EGF sulla superficie cellulare, può causare un'alterazione dell'omeostasi nel tessuto connettivo gengivale. Questo effetto può essere mediato dall'azione del farmaco sull'accumulo intracellulare di Ca^{2+} (Brunius & Modeer 1989). I risultati di questi due studi sono in contrasto, uno mostrando una down-regolazione del metabolismo del recettore EGF indotta dalla fenitoina, l'altro mostrando il contrario. Le differenze possono essere correlate alla variabilità del paziente relativamente all'origine dei fibroblasti gengivali, all'età dei pazienti, o all'esiguità del campione. La reale portata dell'interazione tra fenitoina ed EGF, come potenziale meccanismo patogenetico della DIGO resta equivoca. La questione è ulteriormente offuscata dalla constatazione che qualsiasi alterazione nel metabolismo del recettore EGF sui fibroblasti gengivali non può essere tradotta in un aumento della sintesi di collagene (Wrana et al, 1986).

La patogenesi della DIGO indotta da fenitoina è stata anche valutata in relazione all'espressione genica del fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGF) nei macrofagi e monociti (Dill et al. 1993). Una coltura peritoneale di ratto di macrofagi e monociti di sangue umano con fenitoina (a concentrazioni variabili tra 5-20 $\mu\text{g/ml}$ di terreno) ha causato un incremento di 2-8 volte di cellule positive mRNA PDGF-B. In un altro esperimento, i macrofagi di ratto sono stati coltivati con 5 μg di fenitoina

e analizzati per secrezione di PDGF. I valori di PDGF erano significativamente più elevati per le cellule esposte alla fenitoina rispetto alle cellule di controllo. Questi risultati suggeriscono che l'induzione da parte della fenitoina di un aumento della secrezione di PDGF da parte dei macrofagi potrebbe essere un importante fattore nell'espressione della proliferazione gengivale. I macrofagi svolgono un fondamentale ruolo nell'orchestrare le alterazioni infiammatorie placca indotte nei tessuti gengivali. È presente notevole evidenza scientifica che dimostra come tali alterazioni infiammatorie esacerbino la DIGO indotta da fenitoina (Hassell et al. 1983, Nascimento et al. 1985). Pertanto questa ipotesi fornisce un possibile collegamento tra il farmaco (fenitoina e l'infiammazione, nell'espressione della patologia gengivale

PREVENZIONE

Nel paziente suscettibile, lo sviluppo della DIGO può essere migliorata, ma non impedita, con l'eliminazione dei fattori locali, con un controllo meticoloso della placca, e con una regolare terapia di mantenimento parodontale. Un intervallo di 3 mesi per la terapia di mantenimento parodontale è stato raccomandato per i pazienti che assumono farmaci associati alla DIGO⁶³. Ogni richiamo dovrebbe comprendere istruzioni dettagliate per l'igiene orale, ed una profilassi parodontale completa, con rimozione del tartaro sopra e sottogengivale se necessario. Nei pazienti pediatrici, si raccomanda che anche i genitori ricevano le istruzioni per l'igiene orale. In alcuni casi, bande o apparecchiature ortodontiche devono essere rimosse (Boraz et al., 1986). Uno studio su animali ha dimostrato come l'applicazione topica di clorexidina 0,12% possa ridurre la gravità quadro clinico di DIGO indotta da CsA (Pilatti et al., 1998), dimostrandosi strumento valido nella prevenzione e gestione dell'allargamento gengivale nell'uomo.

TRATTAMENTO

Sostituzione della terapia

Il trattamento più efficace della DIGO è la sostituzione del farmaco. Questo approccio prescelto comporta un periodo tra 1 e 8 settimane per la risoluzione delle lesioni⁴³. Non tutti i pazienti rispondono a questa modalità di trattamento, in particolare quelli che presentano un quadro di DIGO cronicizzato (Marshall et al., 1999).

La sostituzione della Fenitoina con un diverso anticonvulsivante è da tempo considerato come il trattamento di scelta per risoluzione della DIGO. Recentemente, la sostituibilità della fenitoina è stata facilitata con l'introduzione di una nuova generazione di anticonvulsivanti come la lamotrigine, il gabapentin, il sultiame ed il topiramato. Sostituzioni da nifedipina a diltiazem o verapamil sono un'opzione. La sostituzione della terapia ipertensiva, da nifedipina a un antipertensivo della stessa classe, come ad esempio isradipina, può provocare la regressione della DIGO (Westbrook et al., 1997). Il tacrolimo (FK506) è un immunosoppressore indicato per pazienti sottoposti a trapianto renale, che non è stato associato a DIGO. La sostituzione della CsA con il tacrolimo può causare una notevole regressione o una completa risoluzione della DIGO in soggetti sottoposti a trapianto renale (James et al., 2000). Tuttavia, nei pazienti sottoposti a trapianto di cuore, se il paziente è clinicamente stabile e gli effetti collaterali di immunosoppressione con CsA sono ben controllati, il team di cardiologia è spesso disincline a modificare la terapia (Khocht et al., 1997).

Trattamento non chirurgico

Il debridement con scaling e levigatura radicolare professionali, se necessario, hanno dimostrato di offrire sollievo in pazienti affetti da DIGO (Sommacarrera et al., 1997). Nei pazienti immunodepressi, le lesioni papillari presenti sulla superfici gengivali hanno dato segni di risoluzione in seguito a terapia topica con farmaci antifungini (nistatina) (Kocht et al., 1997; Payne et al., 1997). Un leggero aumento gengivale indotto da terapia con CsA è stato trattato con terapia di breve ciclo di azitromicina (dai 3 ai 5 giorni, dai 250 ai 500 mg/die), un macrolide semisintetico derivato da eritromicina che non pregiudica i livelli serici di ciclosporina (Gomez et al., 1997; Strachan et al., 2003). Diversi case report, due studi prospettici non randomizzati, e uno studio randomizzato in doppio cieco cross-over in pazienti trapiantati renali in terapia con CsA suggeriscono che se la crescita gengivale è trattata precocemente con azitromicina, è possibile ottenere un miglioramento od una completa risoluzione

delle lesioni. La durata complessiva degli effetti dell'azitromicina varia tra i 3 mesi e i 2 anni (Strachan et al., 2003). Un altro studio contraddice questi risultati, dimostrando che una terapia di 7 giorni di azitromicina (o metronidazolo) non induce la remissione della DIGO indotta dalla CsA, seppur agendo sulla concomitante infezione batterica e sulla infiammazione gengivale (Mesa et al., 2003).

Trattamento parodontale chirurgico

La chirurgia è comunemente eseguita per motivi estetici prima che le conseguenze funzionali sono presenti. Il classico approccio chirurgico è stata la gengivectomia a bisello esterno. Un approccio a gengivectomia interna totale o parziale è stato suggerito come un'alternativa (Marshall et al., 1999). Tecnicamente più impegnativo, ha il beneficio di limitare l'area di guarigione per seconda intenzione rispetto alla gengivectomia esterna, in modo da minimizzare il dolore ed il sanguinamento postoperatorio.

L'uso del laser a CO₂ ha mostrato una certa utilità per il trattamento chirurgico della DIGO, fornendo una rapida emostasi postoperatoria. Un consulto con il medico curante dei pazienti immunodepressi prima del trattamento chirurgico dovrebbe essere effettuato per quanto riguarda la terapia antibiotica e steroidea (Marshall et al., 1999). Un'altra importante complicanza data dalla terapia con CsA è un quadro di ipertensione secondaria. Se la pressione è scarsamente controllata, la terapia chirurgica dev'essere posticipata a causa dell'elevato rischio emorragico postoperatorio. Cambiamenti di posizione repentini sulla poltrona dovrebbero esseri evitati per scongiurare eventi d'ipotensione posturale (Khocht et al., 1997).

ESITI DI TRATTAMENTO E TASSI DI RECIDIVA

Il tasso di recidiva della DIGO nei pazienti trattati con CsA o nifedipina dopo la terapia chirurgica parodontale è risultato essere di circa il 40% a 18 mesi dal trattamento attivo (Ilgenli et al., 1999). Determinanti significativi di recidiva sono risultati essere la giovane età, l'infiammazione gengivale, e scarsa compliance alle visite di controllo (Ilgenli et al., 1999). Uno studio ha evidenziato come gli sciacqui orali con clorexidina (0,12%) due volte al giorno possano prevenire recidive a seguito trattamento chirurgico (Ciancio et al., 1991).

BIBLIOGRAFIA

Addy V, McElay JC, Eyre G, Campbell N, D'Arcy PF. Risk factors in phenytoin-induced gingival hyperplasia. *Journal of Periodontology* 1982;54:373-377.

Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4:1-6.

Babcock JR, Nelson GH. (1964) Gingival hyperplasia and dilantin content of saliva: a pilot study. *Journal of the American Dental Association* 1964;68:195-198.

Barak S, Engelberg I, Hiss Z. Gingival hyperplasia caused by nifedipine: Histopathological findings. *J Periodontol* 1987;58:639-642.

Barber MT, Savage NW, Seymour GJ. (1992) The effect of cyclosporin and lipopolysaccharide on fibroblasts: implication of cyclosporin-induced gingival overgrowth. *Journal of Periodontology* 1992;63:397-404.

Barclay S, Thomason JM, Idle JR, Seymour RA. The incidence and severity of nifedipine-induced gingival overgrowth. *Journal of Clinical Periodontology* 1992;19:311-314

Bartold PM. Regulation of human gingival fibroblast growth and synthetic activity by cyclosporin-A in vitro. *Journal of Periodont Research* 1989;24:314-321.

Benveniste K, Bitar M. Effects of phenytoin on cultured human gingival fibroblasts. Phenytoin induced teratology and gingival pathology. New York, Raven Press 1990:199-213.

Billingham ME. Diagnosis of acute cardiac rejection by endomyocardial biopsy. *Bibl Cardiol* 1988;43:83-102.

Boltchi FE, Rees TD, Iacopino AM. Cyclosporine A- induced gingival overgrowth: A comprehensive review. *Quintessence Int* 1999;30:775-783.

Bolzani G, Della Coletta R, Martelli Junior H, Martelli Junior H, Graner E. Cyclosporin A inhibits production and activity of matrix metalloproteinases by gingival fibroblasts. *J Periodontal Res* 2000;35:51-58.

Boraz RA. A dental protocol for the pediatric cardiac transplant patient. *ASDC J Dent Child* 1986;53:382-385

Brunius G, Modeer T. Effect of phenytoin on intracellular $^{45}\text{Ca}^{2+}$ accumulation in gingival fibroblasts in vitro. *Journal of Oral Pathology & Medicine* 1992;18:485-489.

Bullon P, Machuca G, Martinez-Sahuquillo A, Rios JV, Rojas J, Lacalle JR. Clinical assessment of gingival hyperplasia in patients treated with nifedipine. *Journal of Clinical Feriodontoiology* 1994;21;256-259.

Calne RY, Thiru S, McMaster P, et al. Cyclosporine A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. *Lancet* 1978;2:1323-1327.

Casetta I, Granieri E, Desidera M, et al. Phenytoin-induced gingival overgrowth: A community-based cross-sectional study in Ferrara, Italy. *Neuroepidemiology* 1997;16:296- 303.

Cebeci I, Kantarci A, Firatli E, et al. Evaluation of the frequency of HLA determinants in patients with gingival overgrowth induced by cyclosporine A. *J Clin Peri- odontol* 1996;23:737-742.

Ciancio S, Bartz N, Lauciello F. Cyclosporine-induced gingival hyperplasia and chlorhexidine: A case report. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1991;11:241-245.

Cockey GH, Boughman JA, Hassell TM. (1987) Phenytoin response of gingival fibroblasts from human twins. *Journal of Dental Research* 1987;66;320.

Cockey GH, Boughman JA, Harris EL, Hassell TM. Genetic control of variation in human gingival fibroblast proliferation rate. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Animal* 1989;25;255-258.

Coley C, Jarvis K, Hassell T. Effect of cyclosporin A on human gingival fibroblasts in vitro. *Journal of Dental Research* 1986;65;353.

Dabbous M, Tipton J, Babu L, Haney L, Stricklin G. Collagenolytic activity in gingival hyperplasia. *Journal of Dental Research* 1986;65:331.

Dahllof G, Reinhoit EP, Hjerpe A, Modeer T. A quantitative analysis of connective tissue components in phenytoin-induced gingival overgrowth in children. A stereological study. *Journal of Periodontal Research* 1984;19:401-407.

Dahllof G, Modeer T, Reinholt ER, Wikstrom B, Hjerpe A. Proteoglycans and glycosaminoglycans in phenytoin-induced gingival overgrowth. *Journal of Periodontal Research* 1986;21:13-21.

Dahllof G, Otteskog, P, Modeer T. Phenytoin potentiates accessory cell dependent DNA-synthesis in human lymphocytes in vitro. *Scandinavian Journal of Dental Research* 1986;94:202-207.

Dahllof G, Preber H, Eliasson S, et al. Periodontal condition of epileptic adults treated long-term with phenytoin or carbamazepine. *Epilepsia* 1993;34:960-964.

Daley TD, Wysocki GR, Day C. (1986) Clinical and pharmacologic correlations in cyclosporine-induced gingival hyperplasia. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 1986;61:417-421

Deliliers GL, Santoro E, Polli N, Brune E, Fumagalli L, Risdotti E. (1986) Light and electron microscopic study of cyclosporin A-induced gingival hyperplasia. *Journal of Periodontology* 1986;57:771- 777.

Dill RE, Miller EK, Weil T, Lesley S, Farmer GR, Iacopino AM. Phenytoin increases gene expression for platelet-derived growth factor B chain in macrophages and monocytes. *Journal of Periodontology* 1993.64,169-173.

Dongari AI, Langlais RP, McDonnell HT. Drug-induced gingival overgrowth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993;76:543-548.

Dongari-Bagtzoglou A, Ebersole JL. Increased presence of interleukin-6 (IL-6) and IL-8 secreting fibroblast subpopulations in adult periodontitis. *J Periodontol* 1998;69:899-910.

Duncan MR, Berman B. Stimulation of collagen and glycosaminoglycan production in cultured human adult dermal fibroblasts by recombinant human interleukin- 6. *J Invest Dermatol* 1991;97:686-689.

Ellis JS, Seymour RA, Monkman SC, Idle JR. Gingival sequestration of nifedipine in nifedipine-induced gingival overgrowth. *Lancet* 1992;339:1382-1383,

Ellis JS, Seymour RA, Thomason JM, Butler TM, Idle J. Periodontal variables affecting nifedipine sequestration in gingival crevicular fluid, *J Periodontol Research*. 1995.

Ellis JS, Seymour RA, Steele JG, Robertson P, Butler TJ, Thomason JM. Prevalence of gingival overgrowth induced by calcium channel blockers: A community- based study. *J Periodontol* 1999;70:63-67.

Esterberg HL, White PH. Sodium dilantin gingival hyperplasia. *Journal of the American Dental Association* 1945;32:16-24.

Fan TF, Scott RG. Cyclosporin effects on gingival fibroblasts in vitro. *Journal of Dental Research* 1989;68;288.

Fattore L, Stablein M, Bredfelt G, et al. Gingival hyper- plasia: A side effect of nifedipine and diltiazem. *Spec Care Dent* 1991;11:107-109.

Foster R, Hassell TM. Response of single cell clones of human gingival fibroblasts to phenytoin in vitro. *Journal of Dental Research* 1985;64;289.

Fu E, Nieh S, Wikesjö UM. The effect of plaque reten- tion on cyclosporine-induced gingival overgrowth in rats. *J Periodontol* 1997;68:92-98.

Fu E, Nieh S, Hsiao CT, Hsieh YD, Wikesjö UM, Shen EC. Nifedipine-induced gingival overgrowth in rats: Brief review and experimental study. *J Periodontol* 1998;69: 765-771.

Glickman I, Lewitus MP (1941) Hyperplasia of the gingiva associated with Dilantin (sodium diphenyl hydantoinate) therapy. *Journal of the American Dental association* 1941;28:199-207,

Gomez E, Sanchez-Nunez M, Sanchez JE, et al. Treatment of cyclosporin-induced gingival hyperplasia with azithromycin. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:2694-2697.

Gonzales FJ, Human cytochromes P450: problems and prospects. *Trends in Pharmacological Sciences* 1992;13:346-352.

Goultchin J, Shoskan S. Inhibition of collagen breakdown by diphenylhydantoin. *Biochemistry Biophys Acta* 1980;631:188.

Goultchin J, Sofer B, Shoshan B. The effect of prolonged phenytoin administration on non-collagenous components of gingival tissue. *International Journal of Tissue Reactions* 1983;5:227-230.

Gregoriou A, Schneider P, Shaw P. Phenobarbital-induced gingival overgrowth? Report of two cases and complications in management. *ASDC J Dent Child* 1996;63:408-413.

Guengerich FP, Martin MV, Beaune PH, Kremers P, Wolff T, Waxman DJ. Characterization of rat and human liver microsomal cytochrome P-450 forms involved in nifedipine oxidation, a prototype for genetic polymorphism in oxidative drug metabolism. *Journal of Biological Chemistry* 1986;261:5051-5060.

Hallmon WW, Rossmann JA. The role of drugs in the pathogenesis of gingival overgrowth. A collective review of current concepts. *Periodontol* 2000 1999;21:176-196.

Harding MW, Handschumacher RE, Speicher DW. Isolation and amino acid sequence of cyclophilin. *Journal of Biological Chemistry* 1986;261:8547-8555,

Hassell TM, Page RC, Narayanan AS, Cooper CG. Diphenylhydantoin (Dilantin) gingival hyperplasia: Drug-induced abnormality of connective tissue. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1976;73:2909-2912.

Hassell TM, Page RC, Lindhe J. (1978) Histological evidence for impaired growth control in diphenylhydantoin gingival overgrowth in man. *Archives of Oral Biology* 1978;23:381-384,

Hassell TM. Evidence for production of an inactive col- lagenase by fibroblasts from phenytoin-enlarged human gingiva. *J Oral Pathol* 1982;11:310-317.

Hassell TM, Gilbert GH. Phenytoin sensitivity of fibroblasts as the basis for susceptibility to gingival enlargement. *American Journal of Pathology* 1983;112:218-223.

Hassell TM, Buchanan J, Cuchens M, Douglas R. Fluorescence activated vital cell sorting of human fibroblast subpopulations that bind cyclosporin-A. *Journal of Dental Research* 1988;67:273

Hassell TM, Hefti AF. Drug-induced gingival overgrowth: Old problem, new problem. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991;2:103-137.

Hassell TM, Buchanan J, Cuchens M, et al. Fluorescence activated vital cell sorting of human fibroblast subpopulations that bind CsA. *J Dent Res* 1988;67:273- 276.

Hassell T, Thompson S, Burks J. (1991) Functional phenotype of fibroblasts from normal and dihydropyridine-enlarged human gingiva. *Journal of Dental Research* 1991;70:470.

Hefti AF, Eshenaur AE, Hassell TM, Stone C. Gingival over-growth in cyclosporine A treated multiple sclerosis patients. *Journal of Periodontology* 1994;65:744-749.

Horiba N, Maekawa Y, Abe Y. Cytotoxicity against various cell lines of lipopolysaccharide purified from *Bacteroides*, *Fusobacterium* and *Veillonella* isolated from infected root canals. *Journal of Endodontics* 1989;15:530-534.

Ilgenli T, Atilla G, Baylas H. Effectiveness of periodontal therapy in patients with drug-induced gingival overgrowth. Long-term results. *J Periodontol* 1999;70:967-972.

Jacobs D, Buchanan J, Cuchens M, Hassell TM. The effect of cyclosporin metabolite OL-17 on gingival fibroblast subpopulations. *Journal of Dental Research* 1990;69:221.

James JA, Marley JJ, Jamal S, et al. The calcium channel blocker used with cyclosporin has an effect on gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 2000;27:109-115.

James JA, Boomer S, Maxwell AP, et al. Reduction in gingival overgrowth associated with conversion from cyclosporin A to tacrolimus. *J Clin Periodontol* 2000;27: 144-148.

Johnson BD, Narayanan AS, Pieters HP, Page RC. Effect of cell donor age on the synthetic properties of fibroblasts obtained from phenytoin-induced gingival hyperplasia. *Journal of Periodontal Research* 1990;25;74-80.

Johnson RB, Zebrowski EJ, Dai X. Synergistic enhancement of collagenous protein synthesis by human gingival fibroblasts exposed to nifedipine and interleukin-1-beta in vitro. *J Oral Pathol Med* 2000;29:8-12.

Kamali F, McLaughlin WS, Ball DE, Seymour RA. The effect of multiple anticonvulsant therapy on the expression of phenytoin-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 1999;26:802-805.

Kantor WL, Hassell TM. Increased accumulation of sulfated glycosaminoglycans in cultures of human fibroblasts from phenytoin-induced gingival overgrowth. *Journal of Dental Research* 1983;62;383-387.

Karlinsky JB, Goldstein HR. Regulation of sulfated glycosaminoglycan production by prostaglandin E2 in cultured lung fibroblasts. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1989;114;176-184.

Kataoka M, Shimizu Y, Kunikiyo K, et al. Cyclosporin A decreases the degradation of type I collagen in rat gingival overgrowth. *J Cell Physiol* 2000;182:351-358.

Katz J, Givol N, Chaushu G, Taicher S, Shemer J. Vigabatrin-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 1997;24:180-182.

Khocht A, Schneider LC. Periodontal management of gingival overgrowth in the heart transplant patient: A case report. *J Periodontol* 1997;68:1140-1146.

Kilpatrick NM, Weintraub RG, Lucas JO, Shipp A, Byrt T, Wilkinson JL. Gingival overgrowth in pediatric heart and heart-lung transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 1997;16:1231-1237.

Kinane DK, Drummond JR, Chisholm DM. Langerhans cells in human chronic gingivitis and phenytoin-induced gingival hyperplasia. *Archives of Oral Biology* 1990;35:561-564,

King GN, Fullinaw R, Higgins TS, Walker RJ, Francis DMA, Wiesenfeld D. Gingival hyperplasia in renal allograft recipients receiving cyclosporin-A and calcium antagonist. *Journal of Clinical Periodontology* 1993;20:286-293.

Kitamura K, Morisaki I, Adachi C, Kato K, Mihara J, Sobue S, Hamada S. (1990) Gingival overgrowth induced by cyclosporin A in rats. *Archives of Oral Biology* 1990;35:483-486.

Kronbach T, Fischer Y, Meyer UA. (1988) Cyclosporine metabolism in human liver: identification of a cytochrome P-450 III gene family as the major cyclosporine-metabolizing enzyme explains interactions of cyclosporine with other drugs. *Clinical Pharmacology & Therapeutics* 1988;43:630-63

Lewis IK, Hanlon JT, Schmader KE, et al. Use of medications with potential oral adverse drug interactions in community-dwelling elderly. *Spec Care Dentist* 1993;13: 171-176.

Mariani G, Calastrini C, Carinci F, Marzola R, Caiura G. Ultrastructural features of cyclosporine A-induced gingival hyperplasia. *Journal of Periodontology* 1993;64:1092-1097,

Mariotti A, Hassell T, Jacobs D, Manning CJ, Hefti AF. Cyclosporin A and hydroxycyclosporine (M-17) affect the secretory phenotype of human gingival fibroblasts. *J Oral Pathol Med* 1998;27:260-266.

Marshall RI, Bartold PM. A clinical review of drug-induced gingival overgrowth. *Aust Dent J* 1999;44:219-232.

Masi M, Paolucci P, Perocco P, Franceschi C. Immunosuppression by phenytoin. *Lancet* 1976;860;113-114.

McGaw T, Lam S, Coates J. Cyclosporin-induced gingival overgrowth: correlation with dental plaque scores, gingivitis scores, and cyclosporin levels in serum and saliva. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology* 1987;64;293-297 (Erratum: 1988;65;684).

Meller AT, Rumjanek VM, Sansone C, Allodi S. Oral mucosa alterations induced by cyclosporin in mice: Morphological features. *J Periodontal Res* 2002;37: 412-415.

Meraw SJ, Sheridan PJ. Medically induced gingival hyperplasia. *Mayo Clin Proc* 1998;73:1196-1199.

Modeer T, Dahliof G. Development of phenytoin-induced gingival overgrowth in non-institutionalized epileptic children subjected to different plaque control programs, *Acta Odontologica Scandinavica* 1987;45;81-85.

Modeer T, Dahliof G, Otteskog P. Potentiation of fibroblast spreading by extracellular matrix from fibroblasts derived from phenytoin-induced gingival overgrowth, *Acta Odontologica Scandinavica* 1988;46;101-104.

Modeer T, Andersson G. Regulation of epidermal growth factor receptor metabolism in gingival fibroblasts by phenytoin in vitro. *Journal of Oral Pathology and Medicine* 1990;19;188-191.

Modeer T, Mendez C, Dahliof G, Anduren I, Andersson G. Effect of phenitoin medication on the metabolism of epidermal growth factor receptor in cultured gingival fibroblasts. *Journal of Periodontal Research* 1990;25;120-127.

Modeer T, Brunius G, Inuma M, Lerner UH. Phenytoin potentiates interleukin-1-induced prostaglandin biosynthesis in human gingival fibroblasts. *British Journal of Pharmacology* 1992;106;574- 578.

Modeer T, Wondimu B, Larsson E, Jonzon B. Levels of cyclosporin-A (CsA) in saliva in children after oral administration of the drug in mixture or in capsule form, *Scandinavian Journal of Dental Research* 1992;100;366-370,

Montebugnoli L, Bernardi F. Cyclosporin A effects on extraoral connective tissue in heart transplanted patients. *J Int Acad Periodontol* 1999;1:91-94.

Morisaki I, Kitamura K, Kato K, Marukawa Y, Mihara J. Age dependency of cyclosporin A-induced gingival overgrowth in rats. *Pediatric Dentistry* 1993;15:414-417.

Morisaki I, Fukui N, Fujimori Y, Murakami J, Daikoku H, Amano A. Effects of combined oral treatments with cyclosporine A and nifedipine or diltiazem on drug-induced gingival overgrowth in rats. *J Periodontol* 2000; 71:438-443.

Myers BD, Newton L. Cyclosporine-induced chronic nephropathy: An obliterative microvascular renal injury. *J Am Soc Nephrol* 1991 Aug;2(2 Suppl. 1):S45-S52.

Myrillas TT, Linden GJ, Marley JJ, Irwin CR. Cyclosporin A regulates interleukin-1beta and interleukin-6 expression in gingiva: Implications for gingival overgrowth. *J Periodontol* 1999;70:294-300.

Narayanan AS, Meyers DF, Page RC. Regulation of collagen production in fibroblasts cultured from normal and phenytoin-induced hyperplastic human gingiva. *Journal of Periodontal Research* 1988;23:118-121.

Nascimento A, Castro Barreto R, Bozzo L, Almeida OP. Interaction of phenytoin and inflammation induces gingival overgrowth in rats. *Journal of Periodontal Research* 1985;20:386-391.

Nery E, Edson R, Lee K, et al. Prevalence of nifedipine-induced gingival hyperplasia. *J Periodontol* 1995;66: 572-578.

Niimi A, Tohnai I, Kaneda T, Takeuchi M, Nagura H. Immunohistochemical analysis of effects of cyclosporin A on gingival epithelium. *Journal of Oral Pathology & Medicine* 1990;19:397-403.

Nishikawa S, Tada H, Hamasaki A, Kasahra S, Kido J, Nagata T, Ishida H, Wakano Y. Nifedipine induced gingival hyperplasia: a clinical and in vitro study. *Journal of Periodontology* 1991;62:30-35.

O'Neil TCA, Figures KH. The effects of chlorhexidine and mechanical methods of plaque control on recurrence of gingival hyperplasia in young patients taking phenytoin. *British Dental Journal* 1982;152:130-133.

O'Valle E, Mesa FL, Gomez-Morales M, Aguilar D, Caracuel MD, Medina-Cano MT, Andujar M, Lopez-Hidalgo J, Del Moral RG. (1994) Immunochemical study of 30 cases of cyclosporin A-induced gingival overgrowth. *Journal of Periodontology* 1994;65:724-730.

Penarrocha-Diago M, Bagan-Sebastian J, Vera-Sempere F. Diphenylhydantoin-induced gingival overgrowth in man: A clinico-pathological study. *J Periodontol* 1990;61:571-574.

Pernu HE, Oikarinen K, Knuutila M. Verapamil-induced gingival overgrowth: a clinical, histologic, and biochemic approach. *Journal of Oral Pathology & Medicine* 1989;18:422-425.

Pernu HE, Pernu LMH, Huttunen KRH, Nieminen PA, Knuutila MLE. Gingival overgrowth among renal transplant recipients related to immunosuppressive medication and possible local background factors. *Journal of Periodontology* 1992;63:548-553.

Pernu EH, Knuutila MLE, Huttunen KRH, Tiilikainen ASK. (1994) Drug-induced gingival overgrowth and class II major histocompatibility antigens. *Transplantation* 1994;57:1811-1813.

Pilatti GL, Sampaio JE. The influence of chlorhexidine on the severity of cyclosporin A-induced gingival overgrowth. *J Periodontol* 1997;68:900-904. Erratum in: *J Periodontol* 1998;69:102.

Platt JL, Ferguson RM, Sibley RK, Gajl-Peczalska KJ, Michael AF. Renal interstitial cell populations in cyclosporine nephrotoxicity: Identification using monoclonal antibodies. *Transplantation* 1983;36:343-346.

Postlethwaite AE, Lachman LB, Mainardi CL, Kang AH. Interleukin stimulation of collagenase production by cultured fibroblasts. *Journal of Experimental Medicine* 1983;157:801-806.

Proceedings of the Second International Congress on Cyclosporine. Washington, DC: Grune and Stratton; 1988:1-25.

Rateitschak-Pluss E, Hefti A, Lortscher R, Thiel G. Initial observation that cyclosporin-A induces gingival enlargement in man. *J Clin Periodontol* 1983;10:237-246.

Rees TD, Levine RA. Systemic drugs as a risk factor for periodontal disease initiation and progression. *Compend Contin Educ Dent* 1995;16:20-42.

Romanos GE, Strub JR, Bernimoulin JP. Immunohistochemical distribution of extracellular-matrix proteins as a diagnostic parameter in healthy and diseased gingiva. *Journal of Periodontology* 1993;64:110-119.

Rostock MH, Fryt HR, Turner JE. Severe gingival overgrowth associated with cyclosporine therapy. *J Periodontol* 1986;57:294-299.

Ryffel B, Woerly G, Quesniaux VF, Husi H, Foxwell BM. Covalent binding of cyclosporine inhibits irreversibly T-lymphocyte activation. *Biochemical Pharmacology* 1992;43:953-960.

Salo T, Oikarinen KS, Oikarinen AI. (1990) Effect of phenytoin and nifedipine on collagen gene expression in human gingival fibroblasts. *Journal of Oral Pathology & Medicine* 1990;19:404-407,

Santi E, Bral M. Effect of treatment on cyclosporine- and nifedipine-induced gingival enlargement: Clinical and histologic results. *Int J Periodontics Restorative Dent* 1998;18:80-85.

Savage NW, Seymour GJ, Robinson MF. Cyclosporin-A-induced gingival enlargement. A case report. *Journal of Periodontology* 1987;58:475-480,

Schincaglia GP, Forniti F, Cavallini R, Piva R, Caiura G, Del Senno L. Cyclosporin-A increases type 1 procollagen production and mRNA level in human gingival fibroblasts in vitro. *Journal of Oral Pathology & Medicine* 1992;21:181-185.

Seager J, Jamison DL, Wilson J, Hayward AR, Soothill JF. IgA deficiency, epilepsy, and phenytoin treatment. *Lancet* 1975;ii:632-635.

Seibei W, Yahia N, Stone C, Hassell T. Elevated protein synthesis of cultured fibroblasts after cyclosporin-A therapy in Beagles. *Journal of Dental Research* 1989;68;288.

Seymour RA, Smith DG, Turnbull DN. The effects of phenytoin and sodium valproate on the periodontal health of adult epileptic patients. *Journal of Clinical Periodontology* 1985;12:413-419.

Seymour RA, Smith DG. The effect of a plaque control programme on the incidence and severity of cyclosporin-induced gingival changes. *Journal Clinical Periodontology* 1991;18;107-110.

Seymour RA, Jacobs DJ. Cyclosporin and the gingival tissues [Review]. *Journal of Clinical Periodontology* 1992;19;1-11.

Seymour R, Heasman P. *Drugs, Diseases and the Periodontium*. Oxford: Oxford University Press; 1992.

Seymour RA, Ellis JS, Thomson JM, Monkman S, Idle JR. Amlodipine-induced gingival overgrowth. *Journal of Clinical Periodontology* 1994;21. 281-283.

Shikata H, Utsumi N, Shimojima T, Oda Y, Okada Y. Increased expression of type VI collagen genes in drug-induced gingival enlargement. *FEBS Letters* 1993;334;65-68.

Sinha-Morton R, Dongari-Bagtzoglou AI. Regulation of gingival fibroblast interleukin-6 secretion by cyclosporine A. *J Periodontol* 1999;70:1464-1471.

Sobhani S, Hassell TM, Stone C. Patient age and susceptibility to cyclosporine gingival enlargement: in vitro study. *Journal of Dental Research* 1989;68;416.

Somacarrera ML, Hernandez G, Acero J, Moskow BS. Localization of gingival overgrowth in heart transplant patients undergoing cyclosporin therapy. *Journal of Periodontology* 1994;65;666-670.

Somacarrera ML, Lucas M, Scully C, Barrios C. Effectiveness of periodontal treatments on cyclosporine-induced gingival overgrowth in transplant patients. *Br Dent J* 1997;183:89-94.

Sooriyamoorthy M, Harvey W, Gower DB. The use of human gingival fibroblasts in culture for studying the effects of phenytoin on testosterone metabolism. *Archive of Oral Biology* 1988;33:353-359.

Sooriyamoorthy M, Gower DB, Eley. BM. Androgen metabolism in gingival hyperplasia induced by nifedipine and cyclosporin. *Journal of Periodontal Research* 1990;25:25-30.

Sorrell TC, Forbes IJ, Burness FR, Rischbieth RHC. Depression of immunological function in patients treated with phenytoin sodium (sodium diphenylhydantoin). *Lancet* 1971;ii:1233-i235.

Steinberg A. Phenytoin penetration through sulcular tissues and its possible relationship to phenytoin-induced gingival overgrowth. *Phenvloin induced teratology and gingival palhology*. 1980:179-187. New York. Raven Press.

Strachan D, Burton I, Pearson GJ. Is oral azithromycin effective for the treatment of cyclosporine-induced gingival hyperplasia in cardiac transplant recipients? *J Clin Pharm Ther* 2003;28:329-338.

Thomas DW, Newcombe RG, Osborne GR. Risk factors in the development of cyclosporine-induced gingival overgrowth. *Transplantation* 2000;69:522-526.

Thomason JM, Seymour RA, Rice N. The prevalence and severity of cyclosporin and nifedipine-induced gingival overgrowth. *Journal of Clinical Periodontology* 1993;20:37-40.

Thomason J, Kelly P, Seymour R. The distribution of gingival overgrowth in organ transplant patients. *J Clin Periodontol* 1996;23:367-371.

Thomason J, Seymour R, Ellis J, et al. Determinants of gingival overgrowth severity in organ transplant recipients: An examination of the role of the HLA phenotype. *J Clin Periodontol* 1996;23:628-634.

Thomason JM, Ellis JS, Kelly PJ, Seymour RA. Nifedipine pharmacological variables as risk factors for gingival overgrowth in organ-transplant patients. *Clin Oral Invest* 1997;1:35-39.

Tipton DA, Dabbous MK. Heterogeneity of gingival fibroblast response to cyclosporine. *Journal of Dental Research* 1986;65:331

Tipton DA, Stricklin GP, Dabbous MK. (1991) Fibroblast heterogeneity in collagenolytic response to cyclosporine. *Journal of Cellular Biochemistry* 46. 152-165.

Veronese ME, Doecke CJ, Mackenzie PI, McManus ME, Miners JO, Rees DL, Gasser R, Meyer UA, Birkett DJ. Site-directed mutation studies of human liver cytochrome P-450 isoenzymes in the CYP2C subfamily. *Biochemical Journal* 1993;289:533-538.

Walsh. LJ, Seymour GJ, Powell RN. The regulation of Langerhans cell T6, DR and DQ antigen expression: an hypothesis. *Journal of Oral Pathology* 1988;17:43-46.

Westbrook P, Bednarczyk EM, Carlson M, Sheehan H, Bissada NF. Regression of nifedipine-induced gingival hyperplasia following switch to a same class calcium channel blocker, isradipine. *J Periodontol* 1997;68:645-650

Williamson MS, Miller EK, Plemons J, Rees T, Iacopino AM. Cyclosporine A upregulates interleukin-6 gene expression in human gingiva: Possible mechanism for gingival overgrowth. *J Periodontol* 1994;65:895-903

Wilson RF, Morel A, Smith D, et al. Contribution of individual drugs to gingival overgrowth in adult and juvenile renal transplant patients treated with multiple therapy. *J Clin Periodontol* 1998;25:457-464.

Wrana JL, Sodek J, Ber RL, Bellows CG. The effect of platelet derived transforming growth factor B on normal human diploid gingival fibroblasts. *European Journal of Biochemistry* 1986;159:69-76.

Yamasaki. A.. Rose. C. G.. Pinerio. G. J. & Mahan. C. J. Ultrastructure of fibroblasts in cyclosporin A-induced gingival hyperplasia. *Journal of Oral Pathology* 1987;16:129-34.

Zebrowski EJ, Singer DL, Brunka JR. Cyclosporin-A, Nifedipine and Phenytoin: comparative effects on gingival fibroblast metabolism. *Journal of Dental Research* 1986;65:313.

Zebrowski EJ, Singer DL, Brunka JR. Effects of cyclosporin on human gingival and periodontal ligament fibroblasts. *Journal of Dental Research* 1987;66:310.

Zebrowski EJ, Ramamurthy Singer DL, Brunka JR. (1988) Collagenase activity of cyclosporin, nifedipine and phenytoin treated cells. *Journal of Dental Research* 1988;67:331.

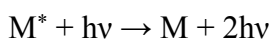
Zebrowski EJ, Pylpas SP, Odium O, Johnson RB. Comparative metabolism of ³H-glucosamine by fibroblast populations exposed to cyclosporine. *Journal of Periodontology* 1994;65:565-567.

2. IL LASER IN ODONTOIATRIA

Il **laser** ("light amplification by stimulated emission of radiation", "amplificazione di luce mediante emissione stimolata di radiazione") è un dispositivo in grado di emettere un fascio di luce coerente, monocromatica e, con alcune eccezioni, concentrata in un raggio rettilineo estremamente collimato attraverso il processo di emissione stimolata. Inoltre la luminosità (brillanza) delle sorgenti laser è elevatissima, a paragone di quella delle sorgenti luminose tradizionali.

Queste tre proprietà (coerenza, monocromaticità e alta brillantezza) sono alla base del vasto ventaglio di applicazioni che i dispositivi laser hanno avuto e continuano ad avere nei campi più disparati: l'elevatissima brillantezza, data dal concentrare una grande potenza in un'area molto piccola, permette ai laser il taglio, l'incisione e la saldatura di metalli; la monocromaticità e coerenza li rende ottimi strumenti di misura di distanze, spostamenti e velocità anche piccolissimi, dell'ordine del millesimo di millimetro; sempre la monocromaticità li rende adatti a trasportare informazioni nelle fibre ottiche o nello spazio libero anche per lunghe distanze come avviene nelle comunicazioni ottiche.

Come dice la stessa sigla (L.A.S.E.R. → Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation), la radiazione laser proviene dal processo di emissione stimolata:



Normalmente la luce che attraversa un materiale viene assorbita dal materiale stesso man mano che avanza, cioè cede potenza agli atomi che incontra, eccitandoli, perché li trova in uno stato energetico "basso". Se si interviene eccitando gli atomi del materiale con una fonte di energia esterna, secondo l'analisi di Einstein le probabilità che avvengano l'emissione stimolata e l'assorbimento sono date dalla percentuale di atomi eccitati a fronte di quella di atomi nello stato energetico base:

$$P_{\text{esp}} = BN_2\rho(v_{12})$$

$$P_{\text{ass}} = BN_1\rho(\nu_{12})$$

dove B è il coefficiente di Einstein, N_1 è la popolazione dello stato a energia E_1 e N_2 è la popolazione dello stato a energia E_2 ; ($E_2 > E_1$);

$\rho(\nu_{12})$ è la densità del campo di radiazione alla frequenza $\nu_{12} = (E_2 - E_1)/h$; Nel caso si riesca ad ottenere una inversione di popolazione (situazione in cui gli atomi eccitati sono in maggior numero rispetto agli atomi normali), la luce che attraversa il materiale *guadagna potenza* invece di perderla, venendo amplificata dall'emissione stimolata degli atomi.

In condizioni di equilibrio N_1 è sempre maggiore di N_2 . Le popolazioni dei due livelli sono descritte dalla distribuzione di Boltzmann:

$$N_2 = N_1 e^{-(E_2 - E_1)/kT}$$

(da notare l'esponente negativo). Pertanto, e per ottenere prevalenza dell'emissione stimolata è necessario mantenere il sistema lontano dall'equilibrio, attuando l'inversione di popolazione (un sistema costituito da un gruppo di corpi elementari in cui ci sono più corpi in stato eccitato che corpi negli stati di minore energia).

CARATTERISTICHE DELLA RADIAZIONE LASER

Direzionalità

Al contrario delle sorgenti elettromagnetiche tradizionali, il laser permette di emettere la radiazione in un'unica direzione. Più precisamente, l'angolo solido (estensione allo spazio tridimensionale del concetto di angolo piano) sotteso da un fascio laser è estremamente piccolo; una buona descrizione della propagazione e collimazione di un fascio laser è data dall'ottica dei fasci gaussiani. Questa caratteristica viene sfruttata in diversi ambiti: per esempio permette di trattare le superfici in maniera estremamente accurata (litografia, CD...). In spettroscopia si ha la possibilità di aumentare notevolmente il cammino ottico, e di conseguenza la sensibilità, usando una sorgente laser che

attraversa il campione con una traiettoria a zig-zag grazie a un sistema di specchi.

Monocromaticità

L'allargamento della banda di emissione è dato dalla larghezza naturale e dall'effetto Doppler (che può essere eliminato o comunque contenuto parecchio). In spettroscopia si sfrutta questa caratteristica per ottenere spettri ad alta risoluzione. Sarebbe molto difficoltoso ottenere gli spettri Raman senza questa caratteristica dei laser.

Brillanza

Nei laser la quantità di energia emessa per unità di angolo solido è incomparabilmente più elevata rispetto alle sorgenti tradizionali. In particolare è elevato il numero di fotoni per unità di frequenza. Questa caratteristica è diretta conseguenza delle due precedentemente citate. Grazie a questa caratteristica si ha la possibilità di osservare fenomeni particolari, come per esempio l'assorbimento a molti fotoni. L'elevata intensità ha trovato anche diverse applicazioni tecnologiche, per esempio nel taglio dei metalli.

Coerenza

Mentre nell'emissione spontanea ogni fotone viene emesso in maniera casuale rispetto agli altri, nell'emissione stimolata ogni fotone ha la stessa fase del fotone che ha indotto l'emissione. La fase viene quindi mantenuta nel tempo e nello spazio. Questa caratteristica ha permesso lo sviluppo della tecnica CARS.

Impulsi ultra-brevi

La tecnologia ha reso possibile costruire laser che emettano pacchetti di onde estremamente stretti nel dominio del tempo (attualmente dell'ordine del femtosecondo). Questi laser hanno trovato impieghi in diversi ambiti di ricerca, hanno per esempio permesso la nascita di una nuova disciplina, che è stata chiamata femtochimica.

TERAPIA LASER-ASSISTITA DELL'IPERTROFIA GENGIVALE FARMACO INDOTTA:
CORRELAZIONI CLINICHE

LASER A DIODI

Sviluppo e utilizzo del laser a diodi

Dopo la scoperta alla fine degli anni cinquanta dell'amplificazione delle onde elettromagnetiche MASER (Microwave Amplification by Stimulated Emission of Radiation) da parte di Townes e coll. (1958) e la successiva applicazione alla luce LASER (Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation) da parte di Maiman e coll. (1960) ci fu una vera e propria gara a realizzare laser sempre più versatili e sofisticati, utilizzando le tecniche più disparate e i materiali più vari (gas, composti solidi, coloranti...). Nel 1962 venne realizzato il primo laser a semiconduttore stimolando attraverso la corrente elettrica con gli atomi di Arsenico e Gallio (Benedicenti, 1982)

Semiconduttore: definizione

Mentre i laser a gas e quelli a cristalli sfruttano le proprietà dei materiali che agiscono come un insieme di atomi stimolati da una fonte di energia, i laser a diodi impiegano materiali noti come semiconduttori. Il semiconduttore si pone come una via intermedia tra le due classi di materiali denominati "conduttori" e "isolanti".

I semiconduttori possiedono alcune peculiari caratteristiche:

1. la capacità di conduzione si incrementa con l'aumentare della temperatura. La conduttività del materiale è proporzionale alla quantità di energia termica applicata
2. "drogando" il semiconduttore lo si trasforma in conduttore elettrico; in questo modo le proprietà di un materiale possono essere modificate con l'aggiunta di impurità atomiche fino al punto di trasformarlo in vero e proprio conduttore. Ad esempio si sfrutta la capacità di far diventare conduttore un materiale come il Gallio attraverso l'aggiunta di "impurità" (atomi di materiali appartenenti ad un differente gruppo della tavola periodica degli elementi), come atomi di Arsenico

Struttura

Un laser a semiconduttore è formato da strati di differenti materiali (Arseniuro di Gallio, GaAs; Arseniuro di Gallio e Alluminio, AlGaAs) che gli conferiscono alcune proprietà peculiari. Questi materiali sono a loro volta "drogati" con Selenio e Zinco per aumentare le loro capacità di conduzione. Nel 1970 i laser a semiconduttore

furono perfezionati con la scoperta della “doppia eterostruttura” (DH) da parte di due gruppi di ricerca, americano e sovietico, che svilupparono i loro sistemi segretamente e all’insaputa l’uno dell’altro (Harbison, 1997).

Il vantaggio apportato da laser DH è che, con l’impiego di un terzo strato di materiale (Alluminio) si ottiene un miglioramento fondamentale nella capacità di confinare la luce prodotta dalla stimolazione, all’interno del dispositivo laser, con la possibilità di emetterla in grande quantità al raggiungimento del valore soglia della corrente elettrica applicata, realizzando così una riflessione totale della luce, come in una fibra ottica. Questi strati di materiale sono tra loro assemblati a formare una specie di wafer, avente lo spessore di alcuni decimi di millimetro. Il wafer così formato è chiuso da due strati metallici che intrappolano la luce emessa per stimolazione degli atomi, convogliandola verso la sua faccia anteriore da cui esce attraverso una minuscola apertura (Vasta, 1998). Un’ulteriore caratteristica del laser a diodi è data dal fatto che le sue ridottissime dimensioni sono ulteriormente enfatizzate dalla struttura cristallina dei materiali costituenti, in virtù della quale non si pone la necessità di fare uso, come in tutti gli altri tipi di laser, di specchi per la riflessione parziale o totale degli atomi eccitati.

Infatti le sfaccettature dei piani atomici della struttura cristallina dei materiali realizzano la riflessione degli atomi eccitati come accade in presenza degli specchi sferici posti all’estremità di una cavità di risonanza.

Il diodo

Il cuore del laser a semiconduttore è il diodo. Il diodo è una struttura formata dall’interfaccia di due strati cristallini aventi la caratteristica di possedere una polarità inversa con conduttività elettrica asimmetrica: una struttura in cui la conduzione della corrente avviene solo in una direzione.

L’energia prodotta dall’eccitazione degli atomi componenti la struttura cristallina può essere emessa sotto due forme: luce e calore.

Nel caso venga emessa sotto forma di calore (come nel caso dei chip di silicio dei computer), essa sarà dissipata, per non creare surriscaldamento, da ventilatori più o meno potenti.

Nel caso l’energia venga emessa sotto forma di luce, il laser potrà essere prodotto con il continuo pompaggio da parte della corrente elettrica, che sarà quindi convertita in un fascio di fotoni.

Qualità della luce laser e lunghezze d'onda

La determinazione qualitativa dell'emissione laser, al contrario di quanto possa apparire, non è complessa.

Poiché i laser a semiconduttore sono formati da strati sottilissimi di materiale, i primi prototipi venivano bruciati anche con applicazioni di bassa intensità di corrente elettrica. I cambiamenti di composizione delle leghe dei materiali, ma soprattutto l'individuazione dei valori soglia ottimali, sono stati la chiave di radicali cambiamenti nella loro affidabilità e durata.

Il valore soglia della corrente elettrica applicata è quello a cui un laser si attiva, ottenendo il picco massimo nell'emissione di luce. Si può quindi affermare che un laser sarà tanto più affidabile e avrà una resa ottimale quanto più basso sarà il valore di energia elettrica per provocare il picco di luce.

I laser a semiconduttore, come quello ad Arseniuro di Gallio, hanno una lunghezza d'onda compresa tra gli 800 ed i 900 nm. Per ottimizzare la lunghezza d'onda, che nei primi laser a semiconduttore era prodotta con il disturbo di una serie di picchi d'onda secondari, è stata introdotta una serie di altri materiali che hanno dato vita ad una quantità di leghe nuove. Alcune delle più affidabili per poter essere usate con le fibre ottiche si sono dimostrate quelle formate da Indio-Gallio-Arsenico e Fosforo (In-GaAsP) e da Alluminio-Gallio-Arsenico (AlGaAs)

Le fibre ottiche

La fibra ottica costituisce il mezzo attraverso cui si propaga la luce del laser a diodi. Oggi le fibre ottiche sono impiegate in molti settori industriali, in particolare per le telecomunicazioni. Le fibre ottiche utilizzate per un laser a diodi hanno le seguenti caratteristiche:

- spessore. Lo spessore delle fibre va da 200 a 600 μm . Solitamente le fibre più piccole (200 μm) sono utilizzate per la chirurgia non a contatto (ablazioni di tessuto) poiché riescono a convogliare alte densità di energia luminosa, ma si rivelano molto fragili e facili alle rotture per le loro ridotte dimensioni. Le fibre da 300 a 400 μm sono invece ideali per la chirurgia a contatto con i tessuti: Hanno caratteristiche di maggiore robustezza, convogliano alte densità energetiche e sono affidabili in quanto difficilmente si fratturano durante l'uso. Le fibre più grosse (600 μm) sono usate per la fotopolimerizzazione o l'attivazione dei sistemi di

sbiancamento dentale e, convogliando basse densità di energia luminosa, risultano meno efficaci nell'utilizzo in chirurgia orale. Il loro spessore, inoltre le rende più rigide e più svantaggiose per l'utilizzo chirurgico.

- lunghezza. Solitamente le fibre ottiche usate per un laser a semiconduttore misurano dai 1500 ai 4000 mm circa, variando da caso a caso a seconda della dotazione che forniscono le diverse case di produzione
- colore della luce guida. La luce può avere colori variabili. Solitamente viene utilizzato un diodo (3-4 mW di potenza) rosso, come quelli usati nelle penne ottiche .

Normalmente le fibre ottiche utilizzate per la conduzione luminosa dei laser a diodi sono costituite da una guaina esterna, da una guaina interna e da un nucleo o fibra di vetro.

La guaina esterna, detta anche guaina di protezione, è composta in materiale plastico, e protegge la parte interna della fibra dagli insulti meccanici, chimici e fisici.

La guaina interna "a mantello" è costituita da quarzo che funge da materiale riflettente (con indice di rifrazione differente dalla fibra di vetro interna) per guidare il fascio di luce laser attraverso l'asse centrale della fibra di vetro (clad).

Il nucleo, o fibra di vetro, è una fibra di quarzo drogato (da silicio o altro) particolarmente trasparente, avente indice di rifrazione maggiore di quello della guaina interna, atta al trasporto della luce laser (core).

La manipolazione delle fibre ottiche dev'essere sempre fatta in modo delicato, poiché non è raro il verificarsi delle rotture accidentali che sono alla base della cattiva conduzione della luce. Durante l'uso, le fibre possono deteriorarsi, per cui spesso si deve provvedere ad una loro manutenzione. Questa consiste nella ricreazione delle condizioni per un buon funzionamento della macchina laser.

I parametri da rispettare sono:

- conduzione della luce guida con spot il più possibile rotondo
- pulizia accurata del terminale
- eliminazione delle impurità

La correzione delle fibre ottiche può essere fatta utilizzando un accessorio denominato taglia guaina che seziona la guaina esterna, e da un taglia fibra che incide la fibra di vetro. La decontaminazione delle fibre avviene immediatamente con l'emissione della luce laser.

Modalità d'emissione dell'impulso

Le modalità di emissione dell'impulso più utilizzate in ambito odontoiatrico sono:

- emissione continua
- emissione pulsata
- emissione superpulsata

L'emissione pulsata e superpulsata sono utilizzate nell'ambito dei laser allo stato solido e semiconduttori, permettendo di eseguire interventi senza l'uso dell'anestesia. Difatti le pulsazioni risultano di brevissima durata (nell'ordine di milli/nanosecondi) e poco percepibili da parte dei recettori nervosi. La brevità dell'impulso preserva il tessuto da incrementi elevati della temperatura con il risultato di un disagio minimo.

L'emissione continua è invece utilizzata nel trattamento chirurgico delle neoformazioni orali. Essa ha il vantaggio di erogare l'energia in modo ininterrotto senza la necessità d'impostare parametri come la frequenza di pulsazioni al secondo (pps) o la lunghezza delle pulsazioni (pulse length). La fibra ottica viene quindi usata, con questa modalità, come un vero e proprio bisturi ottico, consentendo la massima precisioni di taglio.

Interazione con i tessuti

In via generale i parametri che determinano gli effetti della luce laser sui tessuti sono:

- lunghezza d'onda della radiazione laser
- potenza applicata
- durata dell'impulso (tempo di esposizione del tessuto all'azione del laser)

È chiaro che l'azione di un laser avente una lunghezza d'onda determinata agirà in modo diverso a seconda delle caratteristiche del tessuto trattato. Ad esempio, è nota l'affinità che hanno i laser a diodi (con lunghezza d'onda tra gli 800 ed i 900 nm) per la melanina e l'emoglobina (Ilaria & Frati, 2001; Iro et al., 1995).

In particolare la luce laser può interagire secondo 4 modalità principali: riflessione dell'energia laser; assorbimento energetico; trasmissione energetica; diffusione energetica.

Riflessione dell'energia laser. Il raggio laser che incontra un tessuto non affine alle sue caratteristiche, invece di essere assorbito viene riflesso dalla superficie. Questo può comportare una dispersione dell'energia luminosa causando problemi di sicurezza per l'operatore ed il paziente, con la possibilità di danneggiare gli occhi, se non utilizzate le opportune protezioni.

Assorbimento energetico. È lo scopo del trattamento con il laser. Il raggio avente lunghezza d'onda appropriata è assorbito dal tessuto con il conseguente raggiungimento del risultato terapeutico.

Trasmissione energetica. Si tratta di un fenomeno per cui il raggio laser attraversa il tessuto senza danneggiarlo, fino al bersaglio prestabilito. È ciò che viene sfruttato nei moderni interventi di chirurgia oculistica.

Diffusione energetica. Nella diffusione il raggio si espande a livello tissutale con decremento della densità energetica. Questa interazione viene utilizzata per la polimerizzazione delle resine composite.

Indicazioni ed applicazioni cliniche

Uno dei primi lavori clinici sui laser a semiconduttore prevedeva il loro uso nel trattamento delle ulcerazioni (afte o erosioni) dei tessuti molli orali e la loro applicazione nei casi d'ipersensibilità dentinale (Takahashi et al., 1987).

Dagli inizi degli anni novanta varie sono state le pubblicazioni che hanno evidenziato l'ampliamento dell'utilizzazione del laser a diodi anche in campo endodontico, parodontale, e nella chirurgia dei tessuti molli (Moritz et al., 1997; Moritz et al., 1998; Natami et al., 1993; Romanos et al., 1999).

Pochi studi clinici si sono concentrati sul confronto tra i vari tipi di laser (CO₂-Nd:YAG) e il laser a diodi, il cui impiego si è dimostrato di grande utilità ed affidabilità (Romanos et al., 2000; Rastegar et al., 1992; White, Kudler et al., 1998; White, Chaundhry et al., 1998).

Il laser a diodi si rivela efficace per alcune caratteristiche fondamentali:

- completa sterilità della fonte energetica con conseguente decontaminazione e sterilizzazione dei tessuti trattati;
- minore e discreto aumento della temperatura sul bersaglio trattato in confronto ai parametri simili di trattamento con altri tipi di laser

- minima necessità di utilizzo dell'anestetico locale, anche in modalità continua
- perfetto controllo dell'emostasi dovuto all'affinità con l'emoglobina, rendendolo adatto a qualsiasi intervento di piccola chirurgia orale, ed in particolare al trattamento degli angiomi (Goharkhay et al, 1999). Trae vantaggio da questa caratteristica soprattutto il trattamento dei pazienti coagulopatici (piastrinopenici, emofilici) o scoagulati, nonché pazienti affetti da malattie ematologiche ereditarie e da diabete mellito. Se confrontato con bisturi a radiofrequenza o elettrobisturi, l'utilizzo del laser a diodi si differenzia dalla mancata fascicolazione del tessuto muscolare
- minima indispensabilità di applicazione dei punti di sutura , nella quasi totalità dei casi dopo interventi eseguiti
- minimo danno al tessuto circostante l'area del trattamento, soprattutto per danni che possono interessare le aree in vicinanza di strutture particolari (parodonto, gengiva libera) trattate con potenze fino a 4,5W. L'effetto è spiegabile e dimostrabile comparando la profondità di penetrazione verticale dei laser più utilizzati in chirurgia orale (CO₂-Nd:YAG) con similarità di parametri di utilizzo e confrontando istologicamente gli effetti sui tessuti trattati (Pinheiro et al., 1997; Pinheiro et al., 1998; Rastegar et al., 1992; White, Kudler et al., 1998; White, Chaundhry et al, 1998).

BIBLIOGRAFIA

Benedicenti A. Manuale di laserterapia del cavo orale. Maggioli, 1982

Crippa R. Trattamento con laser a diodi delle patologie mucose del cavo orale. UTET, 2005

Goharkhay K, Moritz A, Wilder-Smith P, Schoop U, Kluger W, Jakolitsch S, Sperr W. Effects on oral soft tissue produced by a diode laser in vitro. *Lasers Surg Med.* 1999;25(5):401-6.

Harbison JP, Nahory RE. Laser. Haessing the Atom's Light. Scientific America Library. WH Freeman and Company, 1997

Ilaria G, Frati A. Il laser in odontoiatria ed in chirurgia orale. Milano, UTET Periodici, 2001.

Iro H, Zenk J, Benzel W. Laser lithotripsy of salivary duct stones. *Adv Otorhinolaryngol.* 1995;49:148-52.

Moritz A, Gutknecht N, Doertbudak O, Goharkhay K, Schoop U, Schauer P, Sperr W. Bacterial reduction in periodontal pockets through irradiation with a diode laser: a pilot study. *J Clin Laser Med Surg.* 1997 Feb;15(1):33-7.

Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Schauer P, Doertbudak O, Wernisch J, Sperr W. Treatment of periodontal pockets with a diode laser. *Lasers Surg Med.* 1998;22(5):302-11.

Natami T, Shiba H, Ikeuchi S, Nagai T, Asanami S, Shibata T. Clinical applications and basic studies of laser in dentistry and oral surgery. *Keio J Med* 1993; 42(4):119:201.

Pinheiro AL, Cavalcanti ET, Pinheiro TI, Alves MJ, Manzi CT. Low-level laser therapy in the management of disorders of the maxillofacial region. *J Clin Laser Med Surg.* 1997;15(4):181-3.

Pinheiro AL, Cavalcanti ET, Pinheiro TI, Alves MJ, Miranda ER, De Quevedo AS, Manzi CT, Vieira AL, Rolim AB. Low-level laser therapy is an important tool to treat disorders of the maxillofacial region. *J Clin Laser Med Surg.* 1998 Aug;16(4):223-6.

Rastegar S, Jascueq SL, Motamedi M, Kim B-M. Theoretical analysis of equivalency of high-power diode laser (810 nm) and Nd:YAG laser (1064 nm) for coagulation of tissue. *Laser-Tissue interaction* 1992, 1646:150-60.

Romanos GE, Everts H, Nentwig GH. Effects of diode and Nd:YAG laser irradiation on titanium discs: a scanning electron microscope examination. *J Periodontol.* 2000 May;71(5):810-5.

Takahashi K, Onoda C, Sugiyama S, Noro A, Makiishi T, Ishikawa T. Clinical evaluation of Ga-Al-As semiconductor laser diode (UNI-LASER) irradiation in treatment of solitary aphtha, erosion and hypersensitive dentin. *Shikwa Gakuho.* 1987 Feb;87(2):295-303.

Vasta A. I laser terapeutici. Marrapese Editore, 1998.

White JM, Chaudhry SI, Kudler JJ, Sekandari N, Schoelch ML, Silverman S Jr. Nd:YAG and CO2 laser therapy of oral mucosal lesions. *J Clin Laser Med Surg.* 1998 Dec;16(6):299-304.

White JM, Chaudhry SI, Kudler JJ, Sekandari N, Schoelch ML, Silverman S Jr. Nd:YAG and CO2 laser therapy of oral mucosal lesions. *J Clin Laser Med Surg.* 1998 Dec;16(6):299-304.

3.SPERIMENTAZIONE CLINICA

MATERIALI E METODI

Pazienti

Tra il luglio 2008 ed il settembre 2012 sono stati arruolati presso il reparto di patologia orale dell'Istituto Stomatologico Italiano di Milano pazienti affetti da ipertrofia gengivale farmaco indotta (Drug Induced Gingival Overgrowth – DIGO). Diagnosi di DIGO è stata effettuata seguendo un criterio clinico,. Per essere arruolati, i pazienti dovevano essere in terapia con farmaci appartenenti ad una delle tre classi responsabili della patogenesi. Non sono stati inclusi nello studio pazienti forti fumatori, affetti da diabete non compensato, affetti da disabilità psichiche e/o non collaboranti.

Terapia chirurgica

I pazienti sono stati sottoposti interventi di gengivectomia laser assistita delle lesioni orali.

I pazienti sono stati sottoposti all'intervento a stomaco parzialmente pieno. Sono stati eseguiti degli sciacqui preoperatori di 30''/1' con clorexidina 0,12%. In casi di particolare ansietà, o di indicazioni mediche, i pazienti sono stati operati in regime di sedazione. L'anestesia locale è stata effettuata, quando espressamente richiesta dal paziente prima dell'inizio dell'intervento, con mepivacaina 2% con adrenalina 1:100000, o mepivacaina al 3% senza vasocostrittore. Ai pazienti sono stati fatti indossare gli occhiali protettivi, utili ad annullare gli effetti nocivi indesiderati nel caso di esposizione accidentale degli occhi alla luce laser.

Gli interventi sono stati eseguiti con laser a diodi con lunghezza d'onda tra gli 810 ed i 980 nm, in emissione continua, con fibra tra i 300 ed i 400 µm di diametro, con una potenza compresa tra i 1,1 ed i 5,5 W.

La procedura chirurgica ha previsto l'asportazione del tessuto ipertrofico, con un rimodellamento volto alla restituzione delle normali paraboliche gengivali, per garantire delle condizioni ideali per mantenere uno stato d'igiene orale ottimale. Non sono stati applicati punti di sutura.

Nel periodo postoperatorio ai pazienti è stata prescritta l'applicazione topica di un gel a base di clorexidina 0,12%, 2 volte al giorno per 14 giorni, unita ad un eventuale supporto analgesico al bisogno. È stata consigliata una dieta semiliquida e fredda per i 2 giorni successivi all'intervento.

Per i pazienti in terapia anticoagulante orale od antiaggregante non è stata prevista alcuna sospensione o variazione della terapia in atto.

Il parametro valore è stato valutato tenendo conto della scala VNS. La scala numerica verbale (VNS) è una semplice scala di valutazione del dolore, molto simile alla VAS. È anch'essa lineare e viene facilmente compresa dal paziente che sceglie semplicemente un numero fra 0 (nessun dolore) e 10 (il peggiore dolore immaginabile) per rappresentare il livello di dolore. La VNS elimina la necessità della coordinazione visiva e motoria richiesta per eseguire la VAS e offre quindi maggiori possibilità di completamento. Sembra più utile della VAS per la misurazione nell'immediato periodo postoperatorio.

I pazienti sono stati controllati rispettivamente dopo 15, 30, 60 giorni.

Per la definizione di recidiva sono stati presi in considerazione i criteri utilizzati da Seymour

RISULTATI

Nello studio sono stati selezionati un totale di 14 pazienti affetti da iperplasia gengivale. Il campione è stato rappresentato da 4 maschi e 10 femmine. L'età media dei pazienti, presa in considerazione al momento del primo intervento cui sono stati sottoposti, è stata di 49,68 anni, con un minimo di 12,40 anni, un massimo di 77,62 anni ed una mediana di 59,09 anni.

Il campione da noi preso in esame era composto da 5 pazienti in terapia antipertensiva, 1 pazienti in terapia con farmaci anticonvulsivanti. I rimanenti 8 pazienti dichiaravano di non assumere terapie (tabella 1).

Nessun paziente presentava quadri patologici maggiori concomitanti. Un paziente era in concomitante terapia antidepressiva con Litio, Diazepam e Flunitrazepam.

Nel 28,57% del campione (4 pazienti), clinicamente la DIGO era diffusa ad 1 solo sestante; nel 42,86% dei casi (6 pazienti) il quadro patologico interessava dai 2 ai 3

sestanti, mentre nel restante 28,57% dei casi (4 pazienti) erano interessati più di 4 sestanti. Nell'85,71% dei casi (12 pazienti) la DIGO ha coinvolto almeno uno dei due sestanti anteriori (il II, superiore da 13 a 23, ed il V, da 33 a 43). Di questi 12 pazienti, in 5 erano interessati entrambi i sestanti, in 1 solo il V sestante, e in 6 solo il II sestante. Il sestante più frequentemente colpito è stato il II, interessato nel 91,67% dei casi (11 pazienti su 12), seguito dal III (66,67%; 8 pazienti), dal I (58,33%; 7 pazienti), dal V (50%; 6 pazienti), dal IV (33,33%; 4 pazienti), e dal VI (25%; 3 pazienti) (tabella 2).

I pazienti sono stati sottoposti ad un singolo intervento nel 71,43% dei casi (10 pazienti), mentre nel restante 28,57% dei casi (4 pazienti) si è reso necessario un secondo intervento per la completa rimozione del tessuto patologico. L'anestesia loco-regionale è stata eseguita nel 50% dei casi (7 pazienti). La potenza media utilizzata è stata di 2,1 W, con un minimo di 1,1 W ed un massimo di 3 W (mediana e moda 2,2 W). In 13 casi su 14 (92,86%) è stata utilizzato una emissione di tipo continuo, mentre in 1 caso è stata utilizzata un'emissione

TERAPIA LASER-ASSISTITA DELL'IPERTROFIA GENGIVALE FARMACO INDOTTA:
CORRELAZIONI CLINICHE

	<i>paziente</i>	<i>data di nascita</i>	<i> sesso</i>	<i>farmaco assunto</i>	<i>data intervento</i>
1	B.LL.	19/06/1943	f	Ca ⁺⁺ antagonisti	settembre 2011
2	B.R.	05/04/1941	f		febbraio 2009
3	B.MA.	22/07/1955	f		luglio 2008
4	B.G.	11/05/1996	f	Ca ⁺⁺ antagonisti	ottobre 2008
5	B.M.	25/11/1943	f	Ca ⁺⁺ antagonisti	gennaio 2008
6	D.A.	19/07/1976	f		maggio 2010
7	D.D.	16/04/1990	m	Anticonvulsivanti	maggio 2008
8	F.N.	14/04/1950	f	Ca ⁺⁺ antagonisti	gennaio 2011
9	F.CE.	20/04/1940	f		gennaio 2011
10	G.S.	25/02/1948	f		luglio 2009
11	M.MB.	06/11/1932	f	Ca ⁺⁺ antagonisti	giugno 2010
12	M.R.	28/12/1995	m		gennaio 2009
13	M.A.	16/03/1941	m	Ca ⁺⁺ antagonisti	febbraio 2008
14	P.O.	13/09/1954	m		febbraio 2012

tabella 1: anagrafica del campione.

TERAPIA LASER-ASSISTITA DELL'IPERTROFIA GENGIVALE FARMACO INDOTTA:
CORRELAZIONI CLINICHE

	<i>paziente</i>	<i>I</i>	<i>II</i>	<i>III</i>	<i>IV</i>	<i>V</i>	<i>VI</i>	<i>totale</i>
1	B.LL.		X					1
2	B.R.			X				1
3	B.MA.	X	X	X	X	X		4
4	B.G.	X	X	X	X	X	X	6
5	B.M.	X	X	X				3
6	D.A.		X					1
7	D.D.	X		X				2
8	F.N.					X	X	2
9	F.CE.	X	X	X				3
10	G.S.		X					1
11	M.MB.		X			X		2
12	M.R.	X	X					2
13	M.A.	X	X	X	X	X	X	6
14	P.O.		X	X	X	X		4
	totale	7	11	8	4	6	3	

tabella 2: manifestazione clinica della DIGO all'interno del campione

pulsata, caratterizzata da un tempo "on" di 20 millisecondi, alternato ad un periodo di latenza di 10 millisecondi.

In tutti gli interventi il laser è stato utilizzato in modalità a contatto (tabella 3).

Il decorso postoperatorio non ha visto l'insorgenza di complicanze. Il valore VNS medio è stato di 1,78, con un valore minimo di 1 ed un massimo di 4. La moda è stata assunta dal valore 1, mentre il valore della mediana è stato 1,5.

TERAPIA LASER-ASSISTITA DELL'IPERTROFIA GENGIVALE FARMACO INDOTTA:
CORRELAZIONI CLINICHE

	<i>paziente</i>	<i>n° sedute</i>	<i>potenza (W)</i>	<i>modalità</i>
1	B.LL.	1	2,2	continua a contatto
2	B.R.	1	2,2	continua a contatto
3	B.MA.	2	2,2	continua a contatto
4	B.G.	2	1,9	continua a contatto
5	B.M.	1	2	continua a contatto
6	D.A.	1	2	continua a contatto
7	D.D.	2	1,1	continua a contatto
8	F.N.	1	2,2	continua a contatto
9	F.CE.	1	2,2	pulsata: 20msec on - 10 msec off
10	G.S.	1	2,2	continua a contatto
11	M.MB.	1	2,4	continua a contatto
12	M.R.	1	2	continua a contatto
13	M.A.	1	2,2	continua a contatto
14	P.O.	2	2,7	continua a contatto

tabella 3: modalità operative del laser

Confrontando i valori di VNS tra i pazienti sottoposti ad anestesia loco regionale preoperatoria e non, tramite un test ad analisi della varianza a due code, si è evidenziato come i risultati tra i due gruppi non siano statisticamente significativi per $P < 0,01$ (media \pm SD gruppo anestesia loco-regionale: 2 ± 1 ; media \pm SD gruppo no anestesia loco-regionale: $1,57 \pm 1,13$; test t di Student per analisi della varianza a due code: $P=0,46$) (tabella 4).

Per quanto riguarda la proliferazione, in nessuna delle 3 visite postoperatorie a 15, 30, 60 giorni sono stati evidenziati segni di proliferazione. Il 14,29% (2 pazienti su 14) dei casi è andato incontro a recidiva. In questi casi, il tempo medio trascorso dal

primo intervento è stato di 1,7 anni. Dei pazienti operati per recidiva, entrambi erano in terapia con farmaci Ca^{++} antagonisti.

Ad un esame istologico, dei 14 pazienti in 4 casi è stata confermata la diagnosi di DIGO. In 4 casi è stata fatta diagnosi di iperplasia fibrosa, in 4 di iperparacheratosi, ed in 1 di epulide fibrosa

	<i>paziente</i>	<i>anestesia loco-regionale</i>	<i>VNS</i>
1	B.LL.	no	2
2	B.R.	no	1
3	B.MA.	si	2
4	B.G.	si	2
5	B.M.	no	4
6	D.A.	no	1
7	D.D.	no	1
8	F.N.	si	4
9	F.CE.	si	2
10	G.S.	no	1
11	M.MB.	no	1
12	M.R.	si	1
13	M.A.	si	1
14	P.O.	si	2

tabella 4: valutazione dolore

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Numerosi autori hanno evidenziato come l'uso del laser nel trattamento di lesioni del cavo orale sia da considerare uno dei più grandi progressi tecnologici in odontoiatria (Kreisner et al., 2004). Le proprietà di penetrazione e diffusione nei tessuti, così come la capacità di taglio, coagulazione, e vaporizzazione tissutale, ha reso il laser utile nel trattamento chirurgico delle lesioni vascolari, in particolare della mucosa orale.

Gli utilizzi in campo odontoiatrico del laser ad argon in primo luogo sono stati limitati ad applicazioni non chirurgiche. Powell e Whisenant hanno dimostrato il laser ad Argon essere in grado di sterilizzare strumenti dentali a un livello di energia inferiore a CO₂ e Nd:YAG (Powell & Whisenant, 1991). Anic et al. hanno utilizzato un laser ad Argon per polimerizzare la resina composita all'interno dei canali radicolari (Anic et al., 1995). Anic e Matsumoto hanno confrontato la capacità di sigillo della guttaperca condensata lateralmente con guttaperca termoplastificata mediante laser, non riscontrando differenze significative (Anic & Matsumoto, 1995). In una serie di esperimenti, Hicks et al. hanno segnalato un'azione migliorativa sulla prevenzione della progressione della malattia cariosa sullo smalto e sulle superfici radicolari, mediante di un laser ad Argon usato in combinazione con fluorofosfato acidulato. In particolare, gli autori hanno evidenziato come il laser diminuisca la solubilità della superficie dentale, riducendo il tasso di progressione della carie (Hicks, Flaitz et al., 1995; Hicks, Westerman et al., 1995). Kelsey et al. hanno trovato un significativo miglioramento nelle proprietà fisiche dei materiali resinosi polimerizzati con laser ad Argon (Kelsey et al., 1989). Flaitz et al., Blankenau et al. hanno valutato l'impiego di laser ad Argon nelle cure conservative, riscontrando una maggior tasso di conversione delle resine microriempite rispetto ad una polimerizzazione con metodi convenzionali (Flaitz et al., 1995; Blankenau, Kelsey et al., 1991; Blankenau, Powell et al. 1991). Tra i laser utilizzati per in odontoiatria sono l'argon (514,5 nm), biossido di carbonio (CO₂, 10600 nm), neodimio-itrinio-alluminio-perovskite (Nd-YAP, 1340 nm), neodimio-ytrio-alluminio-granato (Nd-YAG, 1060 nm), e il gallio-alluminio-arseniuro (GaAlAs, 980 nm).

L'utilizzo del laser a diodi pone in essere numerosi vantaggi. Anzitutto il vantaggio dell'uso del laser in chirurgia orale è basato sulle sue proprietà coagulanti, perché la sua lunghezza d'onda è ben assorbita dai tessuti pigmentati, come la melanina e l'emoglobina (Deppe et al., 2007). È raccomandato per tessuti molli anche a causa della sua capacità di taglio, garantendo delle incisioni nette e precise (Theodoro et al., 2003).

L'uso di un laser nel nostro caso ha impedito il verificarsi di eventi emorragici, sia intraoperatori, sia come complicanze postoperatorie, soprattutto in pazienti il cui regime terapeutico poteva determinare delle alterazioni della crasi ematici.

La procedura chirurgica con un laser facilita la visualizzazione del campo operatorio. Delle incisioni nette e precise, un'ablazione omogenea del tessuto, associata ad un'emostasi eccellente, facilitano la visualizzazione del sito chirurgico, fornendo una maggiore precisione chirurgica e portando ad una procedura più rapida e sicura.

Un altro fattore da tenere in considerazione è che questi laser, a causa delle loro proprietà di vaporizzazione dei tessuti, producono una incisione sterile, minimizzando il rischio di diffusione dell'infezione nella ferita, o causando un batteriemia (Pick et al., 1993; Gouw-Soares et al., 2001).

Numerosi ricercatori hanno riportato l'uso dei laser per la chirurgia dei tessuti molli (Pick et al., 1985; Pick et al., 1993; Jeffery et al., 1990; Cohen et al., 1996; Miserendino et al., 1987; White et al., 1991; Midda et al., 1991; Schuller et al., 1990; Fischer et al., 1983; Carruth et al., 1982; Pogrel et al., 1990; Luomanen et al., 1987), riportando non solo una percentuale inferiore di eventi emorragici, ma risultati migliori in termini di dolore postoperatorio rispetto alla chirurgia convenzionale. Alcuni ricercatori hanno ipotizzato che la riduzione del dolore possa essere dovuta alla formazione di un coagulo di proteine sulla superficie della ferita, che potrebbe agire come un sigillo di protezione delle terminazioni nervose (Schuller et al., 1990; Fischer et al., 1983; Pick & Colvard 1993, Romanos & Nentwig 1996). Darbar et al. hanno discusso l'uso di uno stent acrilico che aiuta a ottenere l'omeostasi dopo la terapia convenzionale (Darbar et al., 1996).

Il diametro della fibra utilizzata era di 400 micron, che hanno permesso un migliore controllo al taglio della lesione dando un margine di sicurezza, senza intaccare il tessuto sottostante. Durante l'intera procedura, il raggio laser non è stato tenuto nello stesso posto per troppo tempo ed è stato spostato sopra il tessuto che ha mostrato restringimento e ischemia. Il taglio netto e preciso che il laser può fornire, è di grande aiuto per il contenimento del dolore di tipo neurologico, dato dalla stimolazione diretta dei nocicettori periferici. Oltre a ridurre il rischio di sanguinamento, l'uso del laser migliora il modello di cicatrici e l'estetica postoperatoria.

La letteratura contiene elementi di prova contraddittori riguardo la guarigione di ferite in casi trattati con chirurgia laser. Alcuni autori sostengono che la guarigione sia più veloce esitando in minore tessuto cicatriziale, mentre altri hanno riscontrato il

contrario (Pick et al., 1985; Pick et al., 1993; Jeffery et al., 1990; Cohen et al., 1996; Miserendino et al., 1987; Kutsch et al., 1995; White et al., 1994; Krause et al., 1997; Somacarrera et al., 1994; Pennarocha-Diago et al., 1990; Cebechi et al., 1996; Miller et al., 1992; Nery et al., 1995; Darbar et al., 1996; White et al., 1991; Midda et al., 1991; Schuller et al., 1990; Fischer et al., 1983; Carruth et al., 1982; Pogrel et al., 1990).

Alcuni autori in letteratura riportano come la chirurgia laser sembri avere un impatto significativo sul tasso di recidiva di DIGO rispetto alla gengivectomia con bisturi. Il tasso di recidiva significativamente inferiore nei casi di terapia laser può suggerire una risposta specifica ottenuta da modalità di trattamento. Esso può essere attribuibile ad una diminuzione di collagene da parte dei fibroblasti gengivali e/o ad un ritardo nel processo di guarigione. È stato dimostrato come l'alta energia del laser Nd:YAG sopprima la produzione di collagene in una coltura cellulare di fibroblasti. L'azione sembra essere mediata da un'azione laser sulle reazioni enzimatiche che controllano la sintesi e degradazione del collagene (Abergel, Dwyer et al. 1984; Abergel, Meeker et al. 1984). Il laser a diodi utilizzato nello studio ha una lunghezza d'onda di 810 nm. Questo valore si trova tra quelli dei laser Nd: YAG a bassa energia e ad alta energia.

Il trattamento laser sui tessuti molli orali risulta in un sottile strato di tessuto carbonizzato, con la formazione di un "tappo" di collagene che protegge il tessuto sottostante (Romanos & Nentwig 1996). Inoltre, l'attività mitotica cellulare parte dall'interno del tessuto connettivo dopo la gengivectomia laser (Darbar et al. 1996). Pertanto può essere necessario più tempo per la manifestazione clinica di recidiva rispetto alla tecnica a bisturi. Uno studio clinico randomizzato split mouth, che ha voluto comparare l'efficacia di 3 tecniche operatorie per la terapia della DIGO, ha mostrato come il tasso di ricrescita gengivale nei pazienti trattati con laser tra 1 e 3 mesi fosse inferiore a quello tra i 3 e i 6 mesi, ma questo non era lo stesso per sanguinamento gengivale (Mavrogiannis et al., 2006). L'incidenza di sanguinamento gengivale (infiammazione) è un precursore per lo sviluppo di proliferazione gengivale. Il cambiamento nella contorno gengivale rischia di portare a ritenzione di placca seguita da infiammazione gengivale e una maggiore profondità di sondaggio tasca (Seymour et al 2000). È stato anche suggerito che la ricorrenza aumentata di proliferazione gengivale dopo gengivectomia tradizionale può essere attribuita agli

effetti della ciclosporina e nifedipina sulla superficie dell'area di guarigione, che risulterebbe più ampia e non protetta (Pilloni et al. 1998).

In questo studio abbiamo valutato l'efficacia di una tecnica di escissione chirurgica innovativa nella gestione dei DIGO. Il nostro obiettivo principale è stato quello di valutare l'outcome postoperatorio in termini di dolore, guarigione e recidiva. Dal questo punto di vista, ci sono indubbi vantaggi sull'utilizzo dell'escissione laser. Tuttavia, seppure la casistica in nostro possesso non sia in grado di rappresentare un campione significativo, l'utilizzo del laser per la terapia chirurgica della DIGO non è stata d'aiuto per la riduzione dell'incidenza di recidiva rispetto alle tecniche tradizionali a lama fredda.

BIBLIOGRAFIA

Abergel, R. P., Dwyer, R. M., Meeker, C. A., Lask, G., Kelly, A. P. & Uitto, I. (1984a) Laser treatment of keloids: a clinical trial and in vivo study with Nd:YAG laser. *Lasers in Surgery and Medicine* 4, 291–295.

Abergel, R. P., Meeker, C. A., Lam, T. S., Dwyer, R. M., Lesavoy, M. A. & Uitto, J. (1984b) Control of connective tissue metabolism by lasers. Recent developments and future prospects. *Journal of American Academy of Dermatology* 11, 1142–1150.

Anic I, Matsumoto K. Comparison of the sealing ability of laser softened laterally condensed and low-temperature thermoplastified gutta-percha. *J Endod* 1995;21(9):464-9.

Anic I, Shirasuka T, Matsumoto K. Scanning electron microscopic evaluation of two compaction techniques using a composite resin as a root canal filling material. *J Endod* 1995;21(12):594-8.

Blankenau RJ, Kelsey WP, Powell GL, Shearer GO, Barkmeier WW, Cavel WT. Degree of composite resin polymerization with visible light and argon laser. *Am J Dent* 1991;4(1):40-2.

Blankenau RJ, Powell GL, Kelsey WP, Barkmeier WW. Post-polymerization strength values of an argon laser cured resin. *Lasers Surg Med* 1991;11(5):471-4.

Carruth JAS. Resection of the tongue with the carbon dioxide laser. *J Laryngol Otolaryngol* 1982;96(6):529-43.

Cebeci I, Kantarci A, Firatli W, Carin M, Tuncer O. The effect of verapamil on the prevalence and severity of cyclosporine-induced gingival overgrowth in renal allograft recipients. *J Periodontol* 1996;67(11):1201-5.

Cohen RE, Ammons W. Lasers in periodontics: position paper. *J Periodontol* 1996;67(8):826-30.

Darbar UR, Hopper C, Speight PM, Newman HN. Combined treatment approach to gingival overgrowth due to drug therapy. *J Clin Periodontol* 1996;23(10):941-4.

Deppe H, Horch HH. Laser applications in oral surgery and implant dentistry. *Lasers Med Sci* 2007;22:217-21.

Fischer SE, Frame JW, Browne RM, Tranter RMD. A comparative histological study of wound healing following CO₂ laser and conventional surgical excision of canine buccal mu- cosa. *Arch Oral Biol* 1983;28(4):287-91.

Flaitz CM, Hicks MJ, Westerman GH, Berg JH, Blankenau RJ, Powell GL. Argon laser irradiation and acidulated phosphate fluoride treatment on carieslike lesion forma- tion in enamel: an in vitro study. *Pediatr Dent* 1995;1(1):31-5.

Gouw-Soares S, Tanji E, Haypek P, *et al.* The use of Er:YAG, Nd:YAG and Ga-Al-As lasers in periapical surgery: a 3-year clinical study. *J Clin Laser Med Surg* 2001;19:193-8.

Jeffery WM, Lawrenson B, Longbottom C, Saunders EM. CO₂ laser application to mineralized dental tissues: the possibility of iatrogenic sequelae. *J Dent* 1990;18(1): 24-30.

Kelsey WP, Blankenau RJ, Powell GL, Barkmeier WW, Cavel T, Whisenant BK. Enhancement of physical properties of resin materials by laser polymerization. *Lasers Surg Med* 1989;9(6):623-7.

Krause LS, Cobb CM, Rapley JW, Killoy WJ, Spencer P. Part I. Laser irradiation of bone: an in vitro study concerning the effects of the CO₂ laser on oral mucosa and subja- cent bone. *J Periodontol* 1997;68:872-80.

Kreisner PE, Viegas VN, Pereira ACL, Pagnoncelli RM. Surgical excision of buccal hemangioma with laser of Nd-YAG. *Rev Fac Odontol Porto Alegre* 2004;45:39-42.

Hicks MJ, Flaitz CM, Westerman GH, Blankenau RJ, Powell GL, Berg JH. Enamel caries initiation and progression following low luece (energy) argon laser and fluoride treatment. *J Clin Pediatr Dent* 1995;20(1): 9-13.

Hicks MJ, Westerman GH, Flaitz CM, Blankenau RJ, Powell GL, Berg JH. Effects of argon laser irradiation and acidulated phosphate fluoride on root caries. *Am J Dent* 1995;8(1):10-4.

Jeffery WM, Lawrenson B, Longbottom C, Saunders EM. CO₂ laser application to mineralized dental tissues: the possibility of iatrogenic sequelae. *J Dent* 1990;18(1):24-30.

Kutsch VK, Blankenau RJ. Surgical applications of the argon laser. In: Miserendino CJ, Pick RM, eds. *Lasers in dentistry*. Lombard, Ill.: Quintessence; 1995:129-43.

Luomanen M. A comparative study of healing of laser and scalpel incision wounds in rat oral mucosa. *Scand J Dent Res* 1987;95(1):65-73.

Mavrogiannis M, Ellis JS, Seymour RA, Thomason JM. The efficacy of three different surgical techniques in the management of drug-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 2006;33:677-82.

Midda M, Renten-Harper P. Lasers in dentistry. *Br Dent J* 1991;170(9):343-6.

Miller CS, Damm DD. Incidence of verapamil-induced gingival hyperplasia in a dental population. *J Periodontol* 1992;63(5):453-6.

Miserendino L, Neiburger E, Pick R. Current status of lasers in dentistry. *Illinois Dent J* 1987;56(4):254-7.

Nery EB, Edson RG, Lee KK, Pruthi VK, Watson J. Prevalence of nifedipine-induced gingival hyperplasia. *J Periodontol* 1995;66(7):572-8.

Penarrocha-Diago M, Bagen-Sebastian J, Sempere F. Diphenylhydantoin-induced gingival overgrowth in man: a clinico-pathological study. *J Periodontol* 1990;61(8):571-4.

Pick RM, Pecaro BC, Siberman CJ. The laser gingivectomy: the use of the CO₂ laser for the removal of phenytoin hyperplasia. *J Periodontol* 1985;56(8):492-6.

Pick RM, Colvard MD. Current status of lasers in soft tissue dental surgery. *J Periodontol* 1993;64:589-602.

Pilloni, A., Camargo, P. M., Carere, M. & Carranza, F. A. J. (1998) Surgical treatment of cyclosporine A- and nifedipine-induced gingival enlargement: gingivectomy versus periodontal flap. *Journal of Periodontology* 69, 791–797.

Pogrel MA, Yen CK, Hansen LS. A comparison of carbon dioxide laser, liquid nitrogen cryosurgery, and scalpel wounds in healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1990;69(3):269-73.

Powell GL, Whisenant BK. Comparison of three lasers for dental instrument sterilization. *Lasers Surg Med* 1991;11(1):69-71.

Romanos, G. E. & Nentwig, G. H. (1996) Present and future of lasers in oral soft tissue surgery: clinical applications. *Journal of Clinical Laser Medicine & Surgery* 14, 179–184.

Schuller DE. Use of the laser in the oral cavity. *Otolaryngol Clin North Am* 1990;23 (1):31-42.

Seymour, R. A., Ellis, J. S. & Thomason, J. M. (2000) Risk factors for drug-induced gingival overgrowth. *Journal of Clinical Periodontology* 27, 217–223.

Somacarrera ML, Hernandez G, Acero J, Moskow BS. Factors related to the incidence and severity of cyclosporine-induced gingival overgrowth in transplant patients: a longitudinal study. *J Periodontol* 1994;65(7):671-5.

Theodoro LH, Haypek P, Bachmann L, *et al.* Effect of ER:YAG and diode laser irradiation on the root surface: morphological and thermal analysis. *J Periodontol.* 2003;74:838-43.

White JM, Goodis HE, Rose CL. Use of the pulsed Nd:YAG laser for intraoral soft tissue surgery. *Lasers Surg Med* 1991;11(5):455- 61.

White JM, Fagan MC, Goodis HE. Intrapulpal temperatures during pulsed Nd:YAG laser treatment of dentin in vitro. *J Periodontol* 1994;65(3):255-9.