

Uso de inhibidores de metaloproteinasas en la terapia periodontal

Fosquiera EC, Tay LY, Herrera DR, Pillati GL, Santos FA. Uso de inhibidores de metaloproteinasas en la terapia periodontal. Rev Estomatol Herediana. 2009; 19(2):111-117.

RESUMEN

Las metaloproteinasas de la matriz (MMPs) son una familia de enzimas proteolíticas metalodependientes que promueven la degradación de los componentes de la matriz extracelular, siendo una de las principales responsables por la degradación de colágeno durante la destrucción de los tejidos periodontales. El desequilibrio entre la degradación y la producción de colágeno debido a los altos niveles de MMPs en los tejidos periodontales inflamados, promueve la pérdida de inserción periodontal. Las enzimas liberadas degradan el colágeno que forma la base estructural del periodonto, promoviendo así la destrucción tisular. La actividad de las MMPs en el sustrato de la matriz extracelular es regulada por la transcripción y activación de las proenzimas inactivas, la interacción con componentes específicos de la matriz extracelular y principalmente por los inhibidores tisulares endógenos de metaloproteinasas (TIMPs). En la terapia periodontal han sido administradas dosis subantimicrobianas de doxiciclina como coadyuvante al raspaje y alisado radicular, debido a sus propiedades de inhibición en la actividad de las MMPs. En este estudio, fueron revisados aspectos importantes de las MMPs, discutiéndose el papel de los TIMPs y de los inhibidores sintéticos de metaloproteinasas, el uso de dosis subantimicrobianas de doxiciclina, así como de antiinflamatorios no esteroideos (AINES) en la terapia periodontal. Ya que las MMPs participan activamente del proceso destructivo de la enfermedad periodontal, es importante el uso de inhibidores sintéticos de estas enzimas en la terapia periodontal con la finalidad de minimizar la destrucción del periodonto.

Use of metalloproteinase inhibitors in periodontal therapy

ABSTRACT

Matrix metalloproteinases (MMPs) are a family of proteolytic enzymes that promote degradation of extracellular matrix components, one of the main responsible for the degradation of collagen during the destruction of periodontal tissues. A disturbed balance between degradation and production of collagen, due to high levels of MMPs in periodontal tissues, promotes periodontal attachment loss. Released enzymes degrade collagen that forms the structural basis of the periodontium, thereby promoting tissue destruction. The activity of MMPs in the substrate of the extracellular matrix is regulated by the transcription and activation of inactive pro-enzymes, interaction with specific components of the extracellular matrix and especially by endogenous tissue inhibitors of MMPs (TIMPs). In periodontal therapy have been administered low-dose doxycycline (LDD) therapy as an adjunct to scaling and root planning, because for the properties of inhibiting the activity of MMPs. In this study, important aspects of the MMPs were reviewed, discussing the role of TIMPs and synthetic inhibitors of metalloproteinases, the use of LDD, as well as non-steroidal anti-inflammatory drugs in periodontal therapy. Since the MMPs are actively involved in the destructive process of periodontal disease, it is important the use of synthetic inhibitors of these enzymes in periodontal therapy with the aim of minimizing the destruction of the periodontium.

Key words: MATRIX METALLOPROTEINASES / PERIODONTITIS / DOXYCYCLINE.

Eliana Cristina Fosquiera¹
Lidia Yileng Tay Chu Jon¹
Daniel Rodrigo Herrera Morante¹
Gibson L. Pillati²
Fabio André dos Santos²

¹Alumno del programa de Postgrado en Odontología, Área de Concentración en Clínica Integrada.
²Profesor Adjunto. Departamento de Odontología. Universidade Estadual de Ponta Grossa - PR - Brasil.

Correspondencia

Gibson L. Pillati
Av. Carlos Cavalcanti 4748, Bloco M, Sala 64A,
Uvaranas, CEP 84030-900.
Ponta Grossa - Paraná, Brasil
Teléfono: (55)(42) 3220-3741
e-mail: gibsonpillati@gmail.com

Recibido : 03 de marzo del 2009

Aceptado : 30 de julio del 2009

Introducción

La investigación biomédica moderna ha generado gran cantidad de evidencia científica que ha logrado impregnar los actuales modelos del tratamiento de las enfermedades periodontales. Esto ha servido para mejorar procesos de diagnóstico y tratamiento de la enfermedad periodontal, donde el clínico cuenta cada vez con más recursos diagnósticos y terapéuticos, que le permite entender la progresión y la fisiopatología de la enfermedad.

La enfermedad periodontal es una alteración inflamatoria ocasionada y mantenida por el biofilm dental, que resulta en destrucción de los tejidos

periodontales por la degradación del colágeno, llevando a la pérdida de inserción del tejido conjuntivo y reabsorción ósea (1-3). La patogénesis de la destrucción de los tejidos periodontales es una consecuencia de la interacción entre el parásito y el huésped, que frente a la agresión microbiana inicia una respuesta celular y humoral.

Las metaloproteinasas de la matriz (MMPs) son las principales responsables por la degradación de colágeno durante la destrucción de los tejidos periodontales (4). El desequilibrio entre la degradación y producción de colágeno, debido a los altos niveles de MMPs en los tejidos periodontales inflamados, promueve

la pérdida de inserción periodontal. Las enzimas liberadas degradan el colágeno, que forma la base estructural del periodonto, promoviendo así la desestructuración tecidual (5-8).

Viendo que las MMPs participan activamente del proceso destructivo en la enfermedad periodontal (4,9-12) e individuos con esta enfermedad presentan niveles significativamente mayores de MMPs que individuos saludables (4), está siendo investigado el uso de inhibidores sintéticos de esas enzimas en la terapia periodontal, con la finalidad de minimizar la destrucción del periodonto. De esta forma, la presente revisión de literatura, tiene

por objetivo resaltar la presencia de MMPs en la enfermedad periodontal, así como el uso de inhibidores para controlar la actividad de estas enzimas.

Metaloproteinasas de la matriz MMPs

Las (MMPs) son una familia de enzimas proteolíticas metalodependientes (necesitan de la presencia de zinc para realizar sus funciones), que promueven la degradación de los componentes de la matriz extracelular como las macromoléculas de colágeno intersticial, fibronectina, laminina, proteoglicanos, entre otras. Participan de eventos fisiológicos y patológicos en el organismo humano, donde su actividad patológica ha sido relacionada a enfermedades como artritis reumatoide, osteoartritis, cáncer, enfermedades cardiovasculares, nefritis y enfermedad periodontal. Dentro de las actividades fisiológicas, las MMPs participan en los procesos normales de remodelación tisular, como ovulación, reparación de heridas, desarrollo embrionario, aneurismas, erupción dental, entre otras (13-17). Las células que principalmente producen MMPs son los leucocitos polimorfonucleares, queratinocitos, monocitos, macrófagos, fibroblastos y las células mesenquimales (18-22), ante la presencia de factores de crecimiento ($TNF-\alpha$ $TGF-\alpha$) y citocinas (Interleucina 1 y 8), dichas células liberan MMPs en el medio extracelular (23) donde son secretadas como pro-enzimas inactivas (zimógenas) siendo activadas en el ambiente pericelular de los tejidos (19,21,22,24).

MMPs y enfermedad periodontal

La enfermedad periodontal es

una alteración inflamatoria ocasionada y mantenida por el biofilm dental, que resulta en destrucción de los tejidos periodontales por la degradación del colágeno, llevando a la pérdida de inserción del tejido conjuntivo y reabsorción ósea (1-3). La patogénesis de la destrucción de los tejidos periodontales es una consecuencia de la interacción entre el parásito y el huésped, que frente a la agresión microbiana inicia una respuesta celular y humoral, involucrando la secreción de mediadores pro-inflamatorios como prostaglandina E2 (PgE_2), interleucinas 1 y 8 (IL-1, IL-8), factor de necrosis tumoral alfa ($TNF-\alpha$), RANK L y RANK, los cuales son capaces de inducir reabsorción ósea (18,25) y liberación de las MMPs.

Las MMPs son las principales responsables por la degradación de colágeno durante la destrucción de los tejidos periodontales (4). El desequilibrio entre la degradación y producción de colágeno, debido a los altos niveles de MMPs en los tejidos periodontales inflamados promueve la pérdida de inserción periodontal. Las enzimas liberadas degradan el colágeno que forma la base estructural del periodonto, promoviendo así la desestructuración tisular (5-8).

Han sido identificadas más de 20 tipos diferentes de MMPs humanas las cuales están divididas en subfamilias, conforme su dominio, organización estructural y sustrato específico de degradación: colagenasas, gelatinasas, estromelinas, enamelininas, metaloelastasa, ligadas a membrana, entre otras. Las MMPs -1, -8, -13 son parte del grupo de las colagenasas, teniendo como sustrato de degradación al colágeno helicoidal. Las MMPs -2

e -9 son del grupo de las gelatinasas, siendo denominadas también de gelatinasa A y B respectivamente, y tienen como sustrato principal el clivaje de colágeno tipo I desnaturalizado, clivando también elastina, fibronectina, gelatinina, colágeno tipo IV, V, VII e X. La MMP -2 también posee capacidad de clivar colágeno del tipo I, II e III. Las MMPs -3, -10 y -11 pertenecen a la subfamilia de las estromelinas, la MMP -7 a las matrilisinas, la MMP -12 a las metaloelastasas, la MMP -20 es una enamelinina, y dentro de las MMPs tipo membrana están la -14, -15, -16 y -17 (20,21,26). Los fibroblastos gingivales, macrófagos, neutrófilos y queratinocitos expresan MMPs -1, -2, -3, -8 y -9, así como factores de crecimiento que regulan la transcripción de las MMPs y citocinas inflamatorias (4).

Terapia de la enfermedad periodontal

La terapia periodontal básica se fundamenta en el control mecánico y químico del biofilm, donde encontramos el raspado y alisado radicular, cepillado dental, hilo dental, uso de sustancias químicas como la clorhexidina al 0,12%, etc., así como la utilización de medicamentos que modulen la respuesta del huésped (15,27).

Visto que las MMPs participan activamente del proceso destructivo en la enfermedad periodontal (4,9-12), y que los individuos con esta enfermedad presentan niveles significativamente mayores de MMP-2 y MMP-9 en comparación a individuos saludables (4), y que después del tratamiento periodontal estos niveles de gelatinasas disminuyen, vienen siendo utilizado y se encuentran en constante investigación el uso de inhibidores

sintéticos de estas enzimas en la terapia periodontal con la finalidad de minimizar la destrucción del periodonto.

Inhibición de la actividad de las MMPs

La actividad proteolítica de las MMPs en el sustrato de la matriz extracelular está regulada por el nivel de transcripción, activación de las pro-enzimas inactivas, interacción con componentes específicos de la matriz extracelular y primeramente por los inhibidores titulares endógenos de metaloproteinasas denominados TIMPs (28-30).

Inhibidores tisulares endógenos de metaloproteinasas - TIMPs

Los TIMPs bloquean la actividad de las MMPs uniéndose a la partícula de Zn de las MMPs. Existen actualmente cuatro tipos de TIMPs conocidos, TIMPs -1, -2, -3 y -4 (17). Éstos son producidos por fibroblastos, queratinocitos, células endoteliales y osteoblastos. En la remodelación tisular fisiológica, éstos contribuyen para el mantenimiento del equilibrio metabólico de la matriz extracelular. Para mantener la homeostasis de la matriz extracelular es importante el equilibrio entre la producción de MMPs y la de TIMPs, pudiendo ocurrir un proceso patológico si hubiese un exceso en la actividad de las MMPs en los tejidos (17,21,31).

Un desequilibrio entre MMPs e TIMPs puede contribuir en el proceso de las enfermedades degenerativas. Padrones semejantes de expresión de MMPs y TIMPs pueden estar encontrados en diversas enfermedades que involucran la degradación de la matriz extracelular. En algunos casos la presencia de MMPs y TIMPs en los fluidos corporales como saliva,

fluido crevicular gingival o suero nos ofrecen informaciones adicionales valiosas sobre la progresión de la enfermedad (32).

En los tejidos periodontales sanos, los niveles de TIMPs son generalmente más elevados que en el tejido periodontal inflamado, donde los niveles de las MMPs exceden los niveles de TIMPs. Mientras más grave sea la inflamación, mayor será la concentración de MMPs activas (33). En muestras de fluido crevicular de tejidos inflamados de seres humanos las MMPs -1, -2, -3 y -9 están significativamente aumentadas, mientras que las TIMP -1 y -2 se encuentran significativamente disminuidas en comparación con muestras de controles sanos (34). La destrucción tisular puede ser reducida si este equilibrio fuese restablecido.

El efecto de los niveles de expresión de RNAm de MMPs y de sus inhibidores (TIMPs) fue evaluado en el tejido gingival de individuos con la gingiva sana e individuos con periodontitis crónica generalizada (24). En este estudio, las muestras de tejido gingival fueron colectadas en ambos grupos, aislando el ARN para el análisis a través de PCR (tiempo real) y para observar la concentración de MMPs -1, -3, -9, -8, -13 y TIMPs -1, -2, -3, -4. Los resultados revelaron que los niveles de UNAM de MMP -1 y TIMP -4 fueron significativamente más elevados en los tejidos gingivales afectados por periodontitis ($p < 0,05$). Los niveles de ARN, para MMP -3, -9, -13 y TIMP -1 también fueron elevados en la periodontitis pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Los niveles de RNAm para TIMP -2 y -3 fueron semejantes en gingivas sanas y con periodontitis. Los

autores concluyeron que el aumento de la relación de las MMPs/TIMPs indica un potencial desequilibrio en la degradación y síntesis de la matriz extracelular que persiste en la periodontitis y tejidos gingivales inflamados.

Los TIMPs parecen no ser suficientes para reducir la destrucción de los tejidos por los elevados niveles de MMPs en la periodontitis (35), sin embargo, existen varios estudios analizando la posibilidad de inhibición de MMPs con inhibidores sintéticos, los cuales son capaces de controlar la destrucción de los tejidos periodontales (36).

Inhibidores de metaloproteinasas sintéticos

Las tetraciclinas químicamente modificadas (CMT), dosis sub-antimicrobiana de doxiciclina (LDD) y los antiinflamatorios selectivos para COX-2 son algunos inhibidores sintéticos de las MMPs. Estos inhibidores han sido investigados en odontología y usados adjuntos a la terapia periodontal.

Las tetraciclinas comprenden una familia de medicamentos que además de su acción antimicrobiana, presentan el potencial de inhibir MMPs derivadas del huésped. Estos agentes tienen la capacidad de fijar los iones Ca^{2+} y Zn^{2+} , inhibiendo así directamente la actividad de las MMPs. Este medicamento puede además inhibir la conversión de una pro-MMP a una MMP activa en la matriz extracelular (28,36). La tetraciclina en concentración no citotóxica inhibe las MMPs -2 y -9 (39). Estudios han demostrado que las MMPs consideradas importantes en la periodontitis, incluyendo la MMP -8 son sensibles a su inhibición por LDDs y por derivados CMTs (6,37,38).

Se investigó el efecto de los inhibidores selectivos de COX-2 (Celecoxib) en la enfermedad periodontal inducida en ratas, analizando la depresión de las MMPs -8, -13 y -14, TIMP -1 y laminina -5 y gama -2 en el tejido gingival. Los resultados demostraron, que en el grupo donde fue administrado Celecoxib hubo una expresión más baja de MMP -8, concluyendo que este medicamento puede inhibir la expresión de MMP-8 en el tejido gingival (40). Además, se analizó la pérdida ósea alveolar del grupo al que se le administró Celecoxib, el cual presentó significativamente una mayor pérdida ósea alveolar comparado al grupo control, donde se administró solución fisiológica.

Se realizó un estudio clínico, doble ciego, aleatorio, con 131 individuos, evaluando el efecto de Celecoxib junto a raspaje y alisado radicular en pacientes con periodontitis crónica (41). Los pacientes de este estudio fueron divididos en dos grupos: grupo Celecoxib (200mg) y grupo placebo, los medicamentos fueron diariamente administrados durante seis meses. A cada tres meses y por el periodo de 1 año, se evaluaron los parámetros clínicos: nivel de inserción clínica (NIC) y profundidad al sondaje (PS). Luego se analizó el sangrado al sondaje (SS), índice de placa (IP), movilidad (M) y porcentaje de ganancia o pérdida de inserción clínica. Los resultados demostraron que la media en reducción de PS y ganancia de inserción clínica fueron mayores en el grupo de Celecoxib. Ambos grupos presentaron mejoría en cuanto al IP y SS. Se concluyó que la administración de Celecoxib puede ser eficaz en el tratamiento co-ayudante al raspado y alisado radicular, reduciendo la pérdida ósea

progresiva en individuos con periodontitis crónica. El efecto benéfico persistió hasta después de seis meses. Sin embargo, debido al aumento del riesgo cardiovascular asociado a este medicamento, los pacientes deben ser supervisados, la dosis y administración son de primordial importancia debiendo seguir las orientaciones establecidas por la FDA (Food and Drug Administration).

La LDD (20mg.) administrada dos veces al día fue investigada en diversos estudios como inhibidor sintético de MMPs. Estos estudios concluyeron que es eficaz la administración de LDD co-ayudante a la terapia periodontal (23,42-45).

En un estudio clínico (32) fueron evaluados los niveles de MMP -8, -9, TIMP -1 e IL-6 en el fluido gingival de 32 pacientes con periodontitis crónica, verificándose los siguientes parámetros clínicos: SS, PS, y NIC. Los 32 pacientes fueron divididos en dos grupos donde fueron sometidos a raspado y alisado radicular, siendo un grupo medicado con LDD (20mg), mientras que al otro grupo se le administró un placebo. Después de 120 días se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de placebo y el de doxiciclina, que presentó menor profundidad al sondaje, menor concentración de MMP-8 en el fluido gingival y mayor concentración de TIMPs en las biopsias gingivales.

La revisión sistemática efectuada en un estudio (46) abordó la administración de LDD, antiinflamatorios no esteroideos (AINES) y bifosfonatos como co-ayudantes en la terapia periodontal. La revisión analizó apenas estudios en humanos con gingivitis, periodontitis agresiva o crónica, o implantes dentales (ensayos clínicos aleatorios

controlados, estudios de cohorte, estudios caso-control, estudios transversales y casos clínicos). Los principales resultados encontrados fueron los siguientes: 1. Un estudio de meta-análisis relató mudanzas en la PS y NIC después de la administración de LDD en conjunto a RAR en pacientes con periodontitis, donde los efectos fueron estadísticamente significativos. 2. Los AINES mostraron capacidad para retardar la enfermedad periodontal. 3. Estudios preliminares sobre los bifosfonatos indican la existencia de un potencial papel de estos agentes en la periodontitis. 4. Hay un número limitado de estudios sobre la administración de estos agentes en implantes dentales, por eso, no fue posible algún tipo de análisis. Los autores concluyeron que más ensayos clínicos son necesarios para evaluar el papel de los AINES, bifosfonatos y de la LDD en el tratamiento de la periodontitis. Los AINES y bisfosfonatos son medicamentos que pueden tener un papel co-ayudante en el tratamiento periodontal. La LDD como co-ayudante en terapia de RAR es estadísticamente más eficaz que solo RAR en la reducción de la PS y ganancia de inserción clínica.

El compromiso sistémico inmunológico puede contribuir para la patogénesis de la periodontitis en pacientes HIV-positivo. Un estudio clínico evaluó los niveles de MMP-9 y TIMP-1 en el fluido gingival como factores pronósticos para la progresión de periodontitis en individuos HIV-positivo (47). Participaron en el estudio 35 pacientes donde durante seis meses fue evaluado, el índice gingival (IG), IP, SS, fluido gingival y PS en sitios saludables, con gingivitis y periodontitis. Los niveles de MMP-

9 e TIMP-1 fueron colectados del fluido gingival y analizados. Los sitios con gingivitis y periodontitis presentaron valores significativamente más elevados en comparación a los sitios saludables ($p < 0,001$). Estos datos refuerzan la relevancia del uso de inhibidores sintéticos de metaloproteinasas como co-ayudantes al raspado y alisado radicular en la terapia periodontal, principalmente en pacientes inmunocomprometidos.

Conclusiones

Viendo la participación de las MMPs y los TIMPs en la enfermedad periodontal, es importante el desarrollo y el uso de inhibidores sintéticos de las MMPs como co-ayudantes al RAR en la terapia periodontal. Aunque la inhibición sintética de las MMPs sea promisoría, nuevos trabajos clínicos deben ser realizados.

Referencias bibliográficas

- Teixeira HGC, Fischer RG. Estudo imunohistoquímico dos neuropeptídeos em gengiva saudável e em periodontite crônica em humanos. *Rev Periodontia*. 2007; 17(04):77-84.
- Figueredo CMS, Crispino AF, Tinoco EMB. Níveis elevados de metaloproteínase da matriz-9 em sítios com destruição tecidual de pacientes com periodontite crônica generalizada. *R Ci Med Biol*. 2003; 2(1):40-47.
- Armitage GC. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol*. 1999; 4(1):1-6.
- Birkedal-Hansen H, Moore WG, Bodden MK, Windsor LJ, Birkedal-Hansen B, DeCarlo A, Engler JA. Matrix metalloproteinases: a review. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1993; 4(2):197-250.
- Bildt MM, Snoek-Van Beurden AM, DeGroot J, Van El B, Kuijpers-Jagtman AM, Von den Hoff JW. Chemically modified tetracyclines stimulate matrix metalloproteinase-2 production by periodontal ligament cells. *J Periodontal Res*. 2006; 41(5):463-70.
- Choi DH, Moon IS, Choi BK, Paik JW, Kim YS, Choi SH, Kim CK. Effects of sub-antimicrobial dose doxycycline therapy on crevicular fluid MMP-8, and gingival tissue MMP-9, TIMP-1 and IL-6 levels in chronic periodontitis. *J Periodontal Res*. 2004; 39(1):20-6.
- Souza AP de, Line SRP. The biology of matrix metalloproteinases. *Rev Fac Odontol Bauru*. 2002; 10(1):1-6.
- Llavaneras A, Ramamurthy NS, Heikkilä P, Teronen O, Salo T, Rifkin BR, Ryan ME, Golub LM, Sorsa T. A combination of a chemically modified doxycycline and a bisphosphonate synergistically inhibits endotoxin-induced periodontal breakdown in rats. *J Periodontol*. 2001; 72(8):1069-77.
- Kubota T, Itagaki M, Hoshino C, Nagata M, Morozumi T, Kobayashi T, Takagi R, Yoshie H. Altered gene expression levels of matrix metalloproteinases and their inhibitors in periodontitis-affected gingival tissue. *J Periodontol*. 2008; 79(1):166-73.
- Gürkan A, Cinarcik S, Hüseyinov A. Adjunctive subantimicrobial dose doxycycline: effect on clinical parameters and gingival crevicular fluid transforming growth factor-beta levels in severe, generalized chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005; 32(3):244-53.
- Sorsa T, Tjäderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis*. 2004; 10(6):311-8.
- Bezerra MM, Brito GAC, Ribeiro RA, Rocha FAC. Low-dose doxycycline prevents inflammatory bone resorption in rats. *Braz J Med Biol Res*. 2002; 35(5):613-6.
- Alfant B, Shaddox LM, Tobler J, Magnusson I, Aukhil I, Walker C. Matrix metalloproteinase levels in children with aggressive periodontitis. *J Periodontol*. 2008; 79(5):819-26.
- Hannas AR, Pereira JC, Granjeiro JM, Tjäderhane L. The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. *Acta Odontol Scand*. 2007; 65(1):1-13.
- Cohen DW, Genco RJ, Rose LR, Mealey BL. *Periodontia: Medicina, Cirurgia e Implantes*. São Paulo: Santos Editora; 2007.
- Buduneli N, Vardar S, Atilla G, Sorsa T, Luoto H, Baylas H. Gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels following adjunctive use of meloxicam and initial phase of periodontal therapy. *J Periodontol*. 2002; 73(1):103-9.
- Stamenkovic I. Matrix metalloproteinases in tumor invasion and metastasis. *Semin Cancer Biol*. 2000; 10(6):415-33.
- Graves D. Cytokines that promote periodontal tissue destruction. *J Periodontol*. 2008; 79(8 Suppl):1585-91.
- Navarro VP, Nelson Filho P, Silva LAB, Freitas AC. A participação das metaloproteinasas da matriz nos processos fisiopatológicos da cavidade bucal. *Rev Odontol UNESP*. 2006; 35(4):233-8.
- Hidalgo R. Las metalo-

- proteinasas y el progreso de la lesión cariosa en dentina. *Rev Estomatol Herediana*. 2006; 16(1):64-72.
21. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res*. 2003; 92(8):827-39.
 22. Beertsen W, Holmbeck K, Niehof A, Bianco P, Chrysovergis K, Birkedal-Hansen H, Everts V. On the role of MT1-MMP, a matrix metalloproteinase essential to collagen remodeling, in murine molar eruption and root growth. *Eur J Oral Sci*. 2002; 110(6):445-51.
 23. Emingil G, Atilla G, Sorsa T, Luoto H, Kirilmaz L, Baylas H. The effect of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels in chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2004; 75(1):106-15.
 24. Pereira AC, Carmo ED, Silveira VAS, Amadei SU, Rosa LEB. O papel das MMP-2 e -9 no desenvolvimento do carcinoma epidermóide. *Rev Bras Cancer*. 2006; 52(3):257-62.
 25. Kirkwood KL, Cirelli JA, Rogers JE, Giannobile WV. Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2007; 43:294-315.
 26. Sorsa T, Tjäderhane L, Konttinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee HM, Golub LM, Brown DL, Mäntylä P. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med*. 2006; 38(5):306-21.
 27. Lindhe J, Karring T, Lang NP. Tratado de periodontia clínica e implantologia oral. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005.
 28. Acharya MR, Venitz J, Figg WD, Sparreboom A. Chemically modified tetracyclines as inhibitors of matrix metalloproteinases. *Drug Resist Updat*. 2004; 7(3):195-208.
 29. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2001; 17:463-516.
 30. Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem*. 1999; 274(31):21491-4.
 31. Bode W, Maskos K. Structural basis of the matrix metalloproteinases and their physiological inhibitors, the tissue inhibitors of metalloproteinases. *Biol Chem*. 2003; 384(6):863-72.
 32. Verstappen J, Von den Hoff JW. Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): their biological functions and involvement in oral disease. *J Dent Res*. 2006; 85(12):1074-84.
 33. Page RC. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodontol Res*. 1991; 26(3 Pt 2):230-42.
 34. Soell M, Elkaim R, Tenenbaum H. Cathepsin C, matrix metalloproteinases, and their tissue inhibitors in gingiva and gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *J Dent Res*. 2002; 81(3):174-8.
 35. Ingman T, Tervahartiala T, Ding Y, Tschesche H, Haerian A, Kinane DF, Konttinen YT, Sorsa T. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *J Clin Periodontol*. 1996; 23(12):1127-32.
 36. Golub LM, Lee HM, Ryan ME, Giannobile WV, Payne J, Sorsa T. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Adv Dent Res*. 1998; 12(2):12-26.
 37. Giannobile WV. Host-response therapeutics for periodontal diseases. *J Periodontol*. 2008; 79(8 Suppl):1592-600.
 38. Golub LM, Sorsa T, Lee HM, Ciancio S, Sorbi D, Ramamurthy NS, Gruber B, Salo T, Konttinen YT. Doxycycline inhibits neutrophil (PMN)-type matrix metalloproteinases in human adult periodontitis gingiva. *J Clin Periodontol*. 1995; 22(2):100-9.
 39. Wang Y, Morlandt AB, Xu X, Carnes DL Jr, Chen Z, Steffensen B. Tetracycline at subcytotoxic levels inhibits matrix metalloproteinase-2 and -9 but does not remove the smear layer. *J Periodontol*. 2005; 76(7):1129-39.
 40. Vardar-Sengul S, Buduneli E, Turkoglu O, Buduneli N, Atilla G, Wahlgren J, Sorsa T, Baylas H. The effects of selective COX-2 inhibitor/celecoxib and omega-3 fatty acid on matrix metalloproteinases, TIMP-1, and laminin-5 gamma2-chain immunolocalization in experimental periodontitis. *J Periodontol*. 2008; 79(10):1934-41.
 41. Yen CA, Damoulis PD, Stark PC, Hibberd PL, Singh M, Papas AS. The effect of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor (celecoxib) on chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2008; 79(1):104-13.
 42. Tüter G, Kurti B, Serdar M, Aykan T, Okyay K, Yücel A, Toyman U, Pinar S, Cemri M, Cengel A, Walker SG, Golub LM.

- Effects of scaling and root planing and sub-antimicrobial dose doxycycline on oral and systemic biomarkers of disease in patients with both chronic periodontitis and coronary artery disease. *J Clin Periodontol.* 2007; 34(8):673-81.
43. Preshaw PM, Hefti AF, Novak MJ, Michalowicz BS, Pihlstrom BL, Schoor R, Trummel CL, Dean J, Van Dyke TE, Walker CB, Bradshaw MH. Subantimicrobial dose doxycycline enhances the efficacy of scaling and root planing in chronic periodontitis: a multicenter trial. *J Periodontol.* 2004; 75(8):1068-76.
44. Emingil G, Atilla G, Sorsa T, Savolainen P, Baylas H. Effectiveness of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and gingival crevicular fluid laminin-5 gamma2 chain levels in chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2004; 75(10):1387-96.
45. Caton JG, Ciancio SG, Blieden TM, Bradshaw M, Crout RJ, Hefti AF, Massaro JM, Polson AM, Thomas J, Walker C. Subantimicrobial dose doxycycline as an adjunct to scaling and root planing: post-treatment effects. *J Clin Periodontol.* 2001; 28(8):782-9.
46. Reddy MS, Geurs NC, Gunsolley JC. Periodontal host modulation with antiproteinase, anti-inflammatory, and bone-sparing agents. A systematic review. *Ann Periodontol.* 2003; 8(1):12-37.
47. Alpagot T, Suzara V, Bhattacharyya M. The associations between gingival crevice fluid matrix metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and periodontitis in human immunodeficiency virus-positive patients. *J Periodontal Res.* 2006; 41(6):491-7.