

Cristiano Gabriel Azevedo Pereira Teixeira Alves

O papel das metaloproteinases na doença periodontal.

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2010



Cristiano Gabriel Azevedo Pereira Teixeira Alves

O papel das metaloproteinases na doença periodontal.

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2010

Cristiano Gabriel Azevedo Pereira Teixeira Alves

O papel das metaloproteinases na doença periodontal.

“ Artigo de revisão apresentado  
à Universidade Fernando Pessoa como  
parte dos requisitos para obtenção do grau  
de Mestrado Integrado em Medicina Dentária”

---

## O PAPEL DAS METALOPROTEINASES DA MATRIZ EXTRACELULAR NA DOENÇA PERIODONTAL

Pereira Alves, C.; Pinho, M.\*\*

\* Aluno do 5ºano do Mestrado Integrado em Medicina Dentária da Universidade Fernando Pessoa – Faculdade de Ciências da Saúde; cristiano@ufp.edu.pt

\*\* Médica Dentista, MSc, UFP - FCS

### Resumo:

A doença periodontal caracterizada pela destruição dos tecidos orais de suporte do dente (ligamento, osso e gengiva) inicia-se com a presença de uma flora bacteriana patogénica mas é a resposta imunológica do hospedeiro aos agentes patogénicos que define o alcance e a severidade dessa destruição.

O objectivo deste trabalho é apresentar uma revisão sobre o papel das metaloproteinases na doença periodontal. Efectuou-se a consulta de artigos disponíveis nas bases de dados: *Pubmed*. Utilizaram-se como critérios de selecção estudos publicados entre Janeiro de 2000 e Fevereiro de 2010 referentes ao papel das metaloproteinases da matriz extracelular (MMP) na doença periodontal. Foram utilizados artigos de revisões e revisões sistemáticas.

As metaloproteinases da matriz extracelular (MMP) são enzimas endógenas com importantes funções biológicas e que desempenham um papel fundamental na destruição e remodelação dos tecidos biológicos, quer pela destruição propriamente dita, quer por perpetuar a reacção inflamatória, sendo que o seu controlo farmacológico pode ser útil na terapia periodontal.

**Palavras-chave:** “metaloproteinases de matriz extracelular”; “doença periodontal”;

### Abstract:

Periodontal disease, characterized for the destruction of the oral tissues that support the teeth (periodontal ligament, gingiva and bone) starts with the presence of pathogenic bacteria but it's the host response that dictates the range and severity of that destruction.

The aim of this study is to review the role of matrix metalloproteinases on periodontal disease. It was made a database paper review in: *Pubmed*. The selection criteria were papers published since January of 2000 until February of 2010 and referring the role of MMP in periodontal disease. Reviews and systematic reviews were used.

Matrix metalloproteinases are endogenous enzymes that play major biologic functions and have an important role on the destruction and remodelling of biologic tissues, either by digesting them or perpetuating the inflammatory response. Their pharmacologic control may be useful within periodontal therapy.

**Key-words:** “Matrix metalloproteinases”; “Periodontal disease”.

## **I. Introdução**

As metaloproteínas da matriz extracelular (MMPs) são um grupo de enzimas endógenas. Desempenham um papel importante, tanto em processos fisiológicos como patológicos, na remodelação e degradação de praticamente todos os elementos da matriz extracelular (MEC) (Hannas et al., 2007), sendo que o equilíbrio entre MMPs activadas e Inibidores Tecidulares das Metaloproteínas da Matriz (TIMPs) controla a extensão da remodelação dos tecidos da matriz. As MMPs estão fortemente correlacionadas com a doença periodontal uma vez que são as responsáveis pela degradação do colagénio (componente principal dos tecidos de suporte periodontal) durante a destruição tecidular (Hannas et al., 2007).

O controlo mecânico, químico e farmacológico dos factores iniciantes e perpetuantes da patologia periodontal devem ser do conhecimentos do Médico Dentista de modo a alcançar o melhor tratamento possível, mas este é, normalmente, dirigido ao agente externo - bacteriano - causal mas, estratégias dirigidas a controlar os factores do hospedeiro mediadores da doença têm sido alvo de recentes estudos e que trouxeram à luz novas terapias e um melhor entendimento da etiopatogenia periodontal (Sorsa et al., 2004).

## **II. Materiais e Métodos**

Uma pesquisa na base de dados Pubmed foi realizada a 18 de Fevereiro de 2010 com as seguintes palavras chave: “Metalloproteinases AND (periodontal disease)” limitando os estudos tipo revisão e revisão sistemática publicados nos últimos 10 anos. Alguns artigos encontrados na bibliografia da pesquisa foram também pesquisados para uma melhor avaliação dos resultados.

### III. Desenvolvimento

#### 1. A patologia Periodontal

A patologia periodontal pode ser agrupada nas seguintes entidades: doenças gengivais; periodontite crônica; periodontite agressiva; periodontite como manifestação de uma patologia sistêmica; doenças necrosantes periodontais; abscessos do periodonto; periodontite associada com lesões endodônticas e defomações e condições do desenvolvimento ou adquiridas (Armitage 1999). É geralmente aceite que embora a doença periodontal seja iniciada por uma microflora subgengival, mediadores inflamatórios libertados pelas células do hospedeiro que são chamados aos tecidos gengivais (entre elas: leucócitos; células plasmáticas; macrófagos; neutrófilos e mastócitos) são factores primordiais para a destruição dos tecidos periodontais de suporte (Gapski et al., 2009, Steinsvoll et al., 2004).

A placa bacteriana é um ecossistema único, um biofilme constituído por uma comunidade microbiológica na superfície dentária embebida numa matriz de polímeros de origem salivar e bacteriana formando uma película que se assemelha a uma complexa rede de canais ora

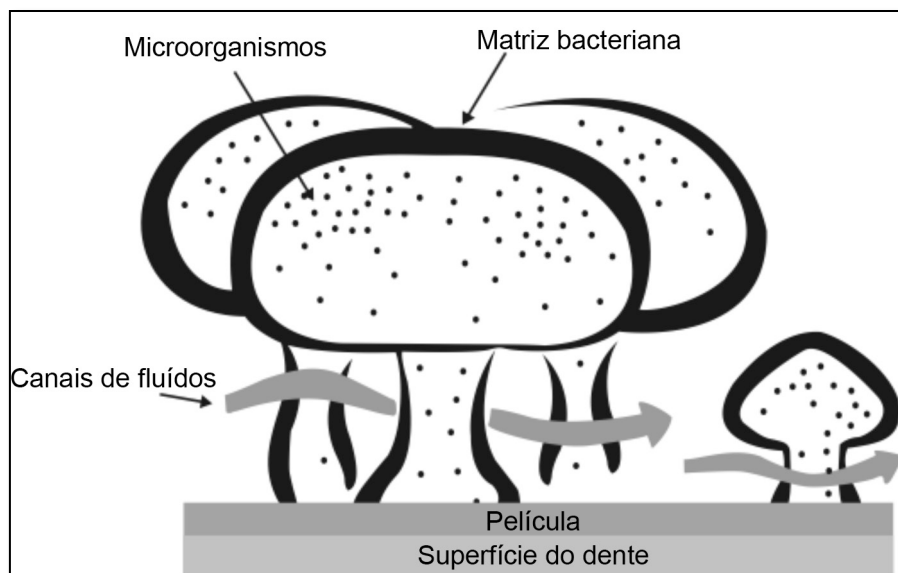


Figure 1: Representação do biofilme bacteriano (Adaptado de Dumitrescu, 2009).

vazios ora preenchidos por uma matriz de polissacarídeos extracelulares (Dumitrescu, 2009). As bactérias no biofilme comunicam entre elas libertando mensageiros químicos e metabólitos (ácidos gordos, péptidos, lipopolissacarídeos de bactérias gram negativo). Estes mensageiros químicos estimulam as bactérias a libertar enzimas e proteínas com potencial

patogénico. A organização das bactérias num biofilme confere propriedades às bactérias que não são evidentes quando estas actuam isoladamente. Interações físicas (co-agregação e co-adesão), metabólicas e fisiológicas (expressão genética e interações célula-célula) resultam numa cooperação positiva entre diferentes espécies dentro do biofilme: os produtos do metabolismo de alguns microorganismos podem ou promover o aumento de outras bactérias ou diminuir a possibilidade de sobrevivência de outras espécies. Estes produtos libertados podem causar dano estrutural e celular nos constituintes do epitélio, tecido gengival e restantes tecidos periodontais de suporte ao promover a secreção de enzimas, especialmente de proteases, que vão degradar os componentes constituintes da matriz extracelular (Gapski et al., 2009, Dumitrescu, 2009, Sorsa et al., 2004, Kinane et al., 2001).

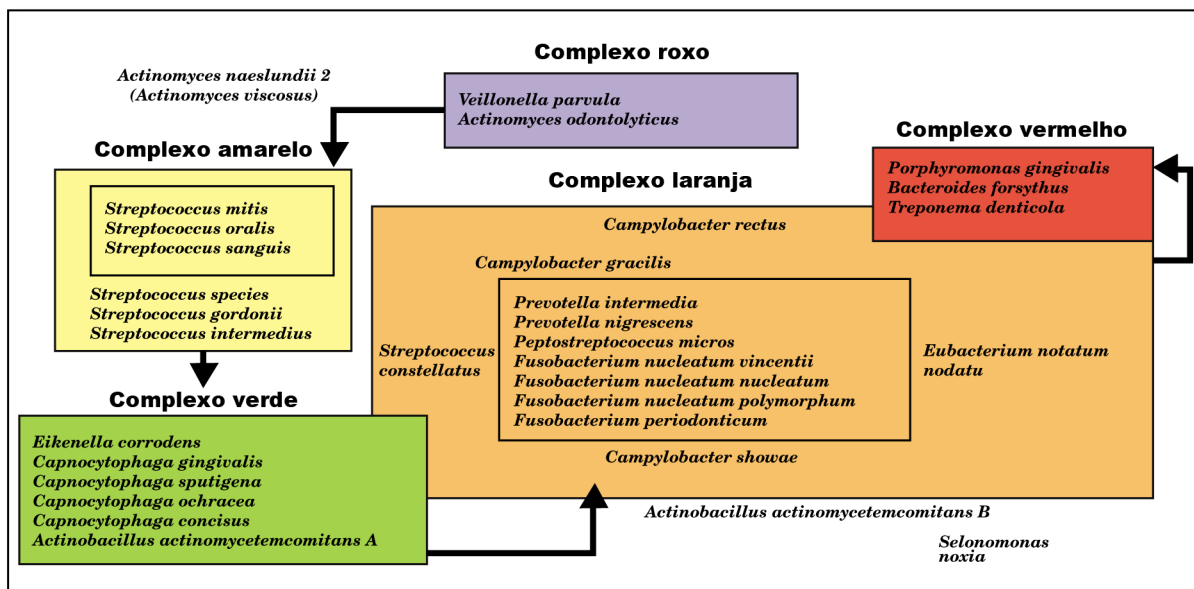


Figure 2: Microflora bacteriana presente na patologia periodontal (Adaptado de Lindhe, 2008).

O sistema de defesa do hospedeiro compreende tecidos, células e moléculas cuja função é proteger o hospedeiro contra agentes infecciosos. A resposta imune pode ser dividida em imunidade inata (inespecífica) e imunidade adaptativa (específica). A Imunidade inata está presente desde o nascimento, não sofre alterações por exposição a um agente infeccioso e não tem memória. Tem como vantagem o curto tempo de resposta mas a sua inespecificidade resulta muitas vezes em destruição de estruturas e tecidos próprios do hospedeiro.

Os produtos resultantes do metabolismo e os mensageiros químicos libertados pelas bactérias estimulam as células do epitélio de união a libertar vários mediadores inflamatórios incluindo a Interleucina-1, Prostaglandina E<sub>2</sub> e MMPs (Potempa et al., 2000). Estes mediadores podem atravessar o epitélio de união e juntar-se ao fluido crevicular gengival (FCG) (Kinane et al.,

2001). A persistência da infecção pode por interação dos agentes inflamatórios e das células da imunidade inata com as células da imunidade adaptativa, quer como resposta humoral quer como resposta celular, resultar numa libertação de mais agentes pro-inflamatórios. Esta resposta, ainda que tenha como objectivo a protecção contra os agentes infecciosos, pode resultar numa resposta ineficaz e prejudicial, com amplificação da destruição dos tecidos do hospedeiro (Kinane et al., 2001, Gemmell et al., 2002).

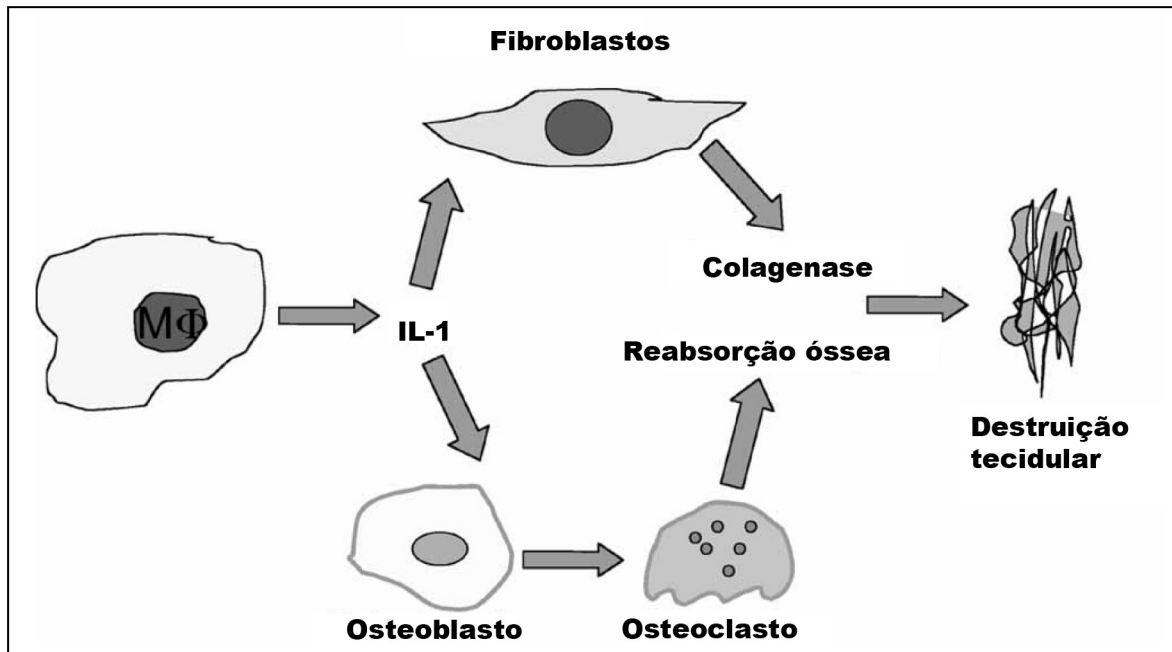


Figure 3: Macrófagos produzem citocinas (tais como IL-1) que induzem os fibroblastos e os osteoclastos a produzir proteases, resultando em destruição óssea e tecidual (Adaptado de Kinane et al., 2000)

Um dos mecanismos envolvidos é o aumento de secreção de colagenases, como a MMP-1, por parte dos macrófagos, como resposta à presença de Prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>). Estudos clínicos demonstraram que elevados níveis de PGE<sub>2</sub> no FCG podiam ser detectados muitos meses antes dos sinais clínicos da doença periodontal (Lee et al., 2004).

## 2. Metaloproteinasas da matriz e o seu papel na destruição da matriz extracelular

As MMPs são uma família de endopeptidases dependentes de Zinco (Zn<sup>2+</sup>) e Cálcio (Ca<sup>2+</sup>), estruturalmente relacionadas mas geneticamente diferentes, que degradam a matriz extracelular e componentes da membrana basal. (Emingil et al., 2004a, Mantyla et al., 2003, Sorsa et al., 2004, Ryan and Golub, 2000). São secretadas por vários tipos celulares (tais como neutrófilos, fibroblastos, células endoteliais do epitélio sulcar gengival, monocitos,

macrófagos e células plasmáticas). Até à data foram classificadas 28 tipos diferentes de MMPs (Hannas et al., 2007). Sabe-se hoje que normalmente cada MMP pode degradar múltiplos substratos, no entanto, a classificação baseada no tipo de substrato continua a ser a mais amplamente utilizada: Colagenases (MMP-1, -8 e -13); Gelatinases ou Colagenases de tipo IV (MMP-2 e -9); Estromalisinas (MMP-3); Matrilisinas; MMPs de membrana; Outros tipos de MMPs.

<b>Grupo</b>	<b>Enzima</b>	<b>Nomenclatura</b>
<b>Colagenasas</b>	MMP-1	Colagenasa 1, Colagenasa fibroblástica
	MMP-8	Colagenasa 2, Colagenasa Neutrófila
	MMP-13	Colagenasa 3
	MMP-18	Colagenasa 4 (Colagenasa Xenopus)
<b>Gelatinasas</b>	MMP-2	Gelatinasa A
	MMP-9	Gelatinasa B
<b>Estromalisinas</b>	MMP-3	Estromalisina 1
	MMP-10	Estromalisina 2
	MMP-11	Estromalisina 3
<b>Matrilisinas</b>	MMP-7	Matrilisina 1, Pump-1
	MMP-26	Matrilisina 2
<b>MMPs de Membrana</b>	MMP-14	MT1-MMP
	MMP-15	MT2-MMP
	MMP-16	MT3-MMP
	MMP-17	MT4-MMP
	MMP-24	MT5-MMP
	MMP-25	MT6-MMP
<b>Outros tipos de MMP</b>	MMP-12	
	MMP-19	
	MMP-20	
	MMP-21	
	MMP-23	
	MMP-27	
	MMP-28	

Table 1: Lista das metaloproteinases da matriz com actividade reconhecida nos tecidos biológicos em humanos. (Adaptado de Hannas et al. 2007)

São secretadas normalmente na sua forma latente e requerem um estímulo endógeno ou exógeno para a sua activação.

As MMPs estão envolvidas em processos fisiológicos (desenvolvimento e diferenciação tecidual; reparação e remodelação de tecido cicatricial; erupção dentária), regulação da comunicação celular, activação dos osteoclastos, migração celular e outros processos imunológicos necessários como o processamento de citocinas, hormonas, defensinas,

moléculas de adesão e factores de crescimento (Lima et al., 2008, Sorsa et al., 2004, Gapski et al., 2009, Ryan and Golub, 2000, Gapski et al., 2004) mas também a processos patológicos tal como o cancro, artrite, a diabetes, a osteoporose, o enfisema pulmonar e a doença periodontal (Lee et al., 2004, Ryan and Golub, 2000, Mantyla et al., 2003, Sorsa et al., 2004, Kinane et al., 2001).

### 3. As metaloproteinasas da matriz e o seu envolvimento na doença periodontal

A formação de bolsas periodontais e a perda de inserção clínica, como ocorre na doença periodontal, deve-se à extensa destruição das fibras de colagénio dos tecidos periodontais de suporte (osso, gengiva e ligamento periodontal), levando muitas vezes à perda de peças dentárias (Ryan and Golub, 2000, Emingil et al., 2004a, Emingil et al., 2004b, Kinane et al., 2003, Mantyla et al., 2003, Sorsa et al., 2004, Dumitrescu, 2009, Berglundh et al., 2007). Se considerarmos como patologia periodontal a perda de inserção clínica (PIC), 50% da população americana entre os 55 e 64 anos de idade apresenta uma PIC  $\geq 4$  em pelo menos um dente (Burt 2005). Segundo a Associação American de Periodontologia, cerca de 30% da população é geneticamente susceptível a desenvolver patologia periodontal severa (AAP, 2010), no entanto esta patologia aparece somente em cerca de 5-15% da população adulta (Burt, 2005).

Provas da ligação entre as MMPs e destruição tecidular são:

- Células isoladas tanto de gengiva saudável como de gengiva inflamada expressam MMPs em cultivo;
- Várias MMPs podem ser detectadas em células gengivais *in vivo*.
- Colagenases e Gelatinases de leucocitos poliformonucleares podem ser encontradas no FCG de pacientes com gengivite e periodontite, expressando uma maior actividade quando comparado com pacientes control (Kinane et al., 2001, Gapski et al., 2009).
- Os leucocitos polimorfonucleares, fibroblastos, queratinócitos, macrófagos e células endoteliais podem expressar complementos de MMPs quando estimuladas (Staab et al., 2009).

Tecido	Tipo de Colagénio
Gengiva	I, III, IV, V, VI
Ligamento Periodontal	I, III, IV, V, VI, XII
Osso Alveolar	I, III, V

Table 2: Tipos de colagénios segundo a sua distribuição nos diferentes tecidos orais.

A origem do aumento de collagenases e outras MMPs nos tecidos periodontais é controverso pois desconhece-se se advêm de leucocitos polimorfonucleares infiltrantes (neste caso, factores que controlem a desgranulação e a quimiotaxis podem influenciar as concentrações de collagenases) ou se advêm da sobre-expressão genética dos fibroblastos da matriz (que produzem MMP-1 e MMP-2). Estudos de cultivos celulares sugerem que fibroblastos expostos a lipopolissacarídeos e citoquinas (IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ ) possam activar os genes para a libertação de MMPs destrutivas (Ryan and Golub, 2000).

A matriz é constituída principalmente por colagénio mas também por proteoglicanos e fibronectina. A MMP-3 (estromalisina) é especialmente eficaz em degradar estes dois últimos constituintes, deixando assim caminho livre para a acção das collagenases (Ryan and Golub, 2000).

As collagenases são uma subclasse das MMPs capazes de degradar a tripla-hélice de Colagénio tipo I (principal constituinte dos tecidos periodontais) em condições fisiológicas (Gapski et al., 2009). Podem existir nos tecidos na “forma activa”, “forma inactiva”, “complexo inibidor de enzima” e na “forma latente” (proenzima). As collagenases humanas, entre elas as MMP-8, -9 e -13, na sua forma activa correlacionam-se com fases de destruição tecidular associadas à doença periodontal (Staab et al., 2009, Sorsa et al., 2004):

- Níveis de collagenases latentes encontram-se mais altos em fluído crevicular gengival de humanos e cães com gengivite, comparando com humanos e cães sem gengivites.
- Pouca ou quase nenhuma actividade de collagenases foi encontrada no FCG de cães saudáveis.
- Níveis mais altos de collagenases foi encontrado no fluído crevicular gengival de pacientes com periodontite localizada, quando comparado com pacientes saudáveis.
- Níveis mais altos de collagenases foram encontradas no FCG de pacientes com com periodontite em fase activa quando comparado com pacientes com periodontite controlada ou com gengivite.
- Níveis elevados de collagenases activas foram encontrados na saliva de pacientes com periodontite não tratada, mas à medida que se iniciava o tratamento o nível de collagenases activas diminuía e o número de collagenasas latentes aumentava (Kinane et al., 2001).

Cada tipo celular (leucocitos polimorfonucleares, fibroblastos, queratinocitos, macrófagos e células endoteliais) é capaz de produzir diferentes tipos de MMPs quando activadas por várias

citoquinas ácido araquidónico e factores de crescimento celular. As células ósseas como os osteoblastos (estimulados pela hormona paratiroideia, vitamina D<sub>3</sub>, IL-1, TNF- $\alpha$ , PGE<sub>2</sub> e Endotoxinas) e os osteoclastos são capazes de expressar e sintetizar MMPs (Ryan and Golub, 2000, Kinane et al., 2001). A reabsorção óssea requer primeiro a secreção, por parte dos osteoblastos, de colagenases para a remoção da matriz orgânica não mineralizada (osteóide) que cobre a superfície óssea. Os osteoclastos são atraídos por quimiotaxia ao local de reabsorção onde se liga à matriz calcificada, liberta protões a acidifica o meio solubilizando os cristais de fosfatase cálcica. Os osteoclastos libertam então numerosas proteinases e MMPs (MMP-9, -13 e -14) para remover a matriz orgânica agora exposta. Os sinais transmitidos pelas inúmeras células e bactérias durante a lesão periodontal tendem a amplificar a produção de MMPs dando origem a uma progressão da doença com posterior destruição dos restantes tecidos periodontais (Kinane et al., 2001, Sorsa et al., 2004, Ryan and Golub, 2000, Gapski et al., 2009, Potempa et al., 2000).

Inibidores endógenos das MMPs incluem os Inibidores Tecidulares das Metaloproteinases (TIMPs) e a  $\alpha_2$ -macroglobulina, sendo que os primeiros regulam a actividade das MMPs na periferia das células enquanto que a  $\alpha_2$ -macroglobulina funciona como reguladora das MMPs nos fluidos corporais (Ryan and Golub, 2000). Actualmente estão identificados quatro tipos de TIMPs, que actuam sobre diferentes substratos, TIMP 1-4 mas, parece estar demonstrado que os TIMPs por si só não conseguem inibir a acção das MMPs quando estas atingem níveis e concentração de actividade patológicos (Sorsa et al., 2004, Roy et al., 2010, Kinane, 2000, Verstappen and Von den Hoff, 2006), no entanto desempenham um papel fundamental no equilíbrio actividade/inactividade das MMPs em condições fisiológicas.

A activação das MMPs envolve a remoção do pro-domínio, resultando numa molécula activa de menor peso molecular. Alguns estudos indicam no entanto que a alguns tipos de MMPs podem estar activos com o seu pro-domínio ligado, ou estando associados a complexos proteicos (Sorsa et al., 2004). A activação das MMPs pode ocorrer com diversos estímulos, entre os quais: compostos de mercúrio e de ouro; detergentes; oxidação. No entanto a activação ocorre normalmente por acção de proteólise enzimática com proteinases de grupos serina, conjuntamente com outras MMPs tanto plasmáticas como de origem bacteriana. A MMP-13 é estimulada pela acção do Factor de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ) (Ryan and Golub, 2000).

As MMPs podem ser inactivadas por vários processos: degradação e inactivação proteolítica; inibidores endógenos não específicos (ex.  $\alpha_2$ -macroglobulina) e especialmente por inibidores tecidulares de MMPs (TIMPs). A inibição sintética oferece uma interessante possibilidade de

controlar as doenças relacionadas com a actividade das MMPs. Alguns destes métodos de inibição sintética incluem:

- Quelantes de  $Zn^{2+}$  que se unam ao sítio activo das enzimas. Exemplos deste tipo de químicos em teste clínico para patologia oncológica incluem o Batimastat e o Marimastat (Sorsa et al., 2004).
- Tetraciclina, entre estas a Doxiciclina em doses sub-antimicrobianas (SDD), Periostat<sup>®</sup>, parece ser a mais eficaz sendo o primeiro medicamento aprovado pela FDA (Food and Drug Administration, USA) para controlo farmacológico da doença periodontal (Gapski et al., 2009, Sorsa et al., 2004, Lee et al., 2004, Emingil et al., 2004a, Emingil et al., 2004b, Preshaw et al., 2004).
- Tetraciclina Modificada Quimicamente (CMTs), por exemplo CMT-3 (6-demetil 6-deoxi 4-de-dimetilaminotetraciclina) (Lee et al., 2004). O Péptido-CTT, um decapeptídeo em fase experimental têm mostrado excelentes resultados na inibição selectiva das gelatinases (Sorsa et al., 2004).
- AINEs: flurbiprofeno (Lee et al., 2004)
- Alimentos probióticos, especialmente *Lactobacillus* spp. e *Bifidobacterium* spp. (Staab et al., 2009, Riccia et al., 2007)
- Bisfosfonatos: alendronato.

MMP-8 é uma colagenase. Secretada por várias células (neutrófilos, fibroblastos, células endoteliais do epitélio sulcar gengival, monocitos, macrófagos e células plasmáticas) é detectada em altos níveis no FCG e na saliva de pacientes com gengivite e periodontite, mas não é detectada em indivíduos saudáveis. Um teste foi desenvolvido com anticorpos monoclonais para MMP-8. Através da colheita de FCG quer em dentes suspeitos de patologia periodontal, quer de locais com implantes suspeitos de peri-implantite médico dentista pode, sem qualquer outro equipamento especial, avaliar em 5 minutos quais os níveis de MMP-8, permitindo deste modo iniciar um tratamento precoce e eficaz, antes de que a grande destruição dos tecidos periodontais seja visível (Mantyla et al., 2003, Loos and Tjoa, 2005).

#### **IV. Conclusão**

A perda irreversível de estruturas de suporte periodontais têm sido sempre a pedra angular que diferencia a gengivite da patologia periodontal. Os agentes patogénios e a resposta do hospedeiro são a base do início e perpetuação da doença periodontal, existindo evidências

claras que as metaloproteinasas da matriz são agentes chave nos processos de destruição tecidual. Um tratamento bem sucedido a longo prazo deve contemplar esta dualidade causal da doença optando-se por uma terapia complementar entre a remoção do agente patogénio e o controlo imunológico da resposta do hospedeiro. Se as MMPs cujos papéis são chave no desenvolvimento das doenças periodontais forem totalmente identificadas, a sua inibição específica poderia trazer um tratamento eficaz, dirigido à verdadeira causa da doença, com efeitos secundários mínimos.

## V. Bibliografia

American Academy of Periodontology. Types of Gum Disease. [em linha]. Disponível em <http://www.perio.org/consumer/2a.html> [Consultado em 02/09/2010].

American Academy of Periodontology. Families and Periodontal Disease. [em linha]. Disponível em <http://www.perio.org/consumer/webfamilies.html> [Consultado em 02/09/2010].

Armitage, G. C. (1999). "Development of a classification system for periodontal diseases and conditions." Ann Periodontol **4**(1): 1-6.

Berglundh, T., M. Donati, et al. (2007). "B cells in periodontitis: friends or enemies?" Periodontol 2000 **45**: 51-66.

Burt, B. (2005). "Position paper: epidemiology of periodontal diseases." J Periodontol **76**(8): 1406-1419.

Dumitrescu, A. L. (2009). Etiology and pathogenesis of periodontal disease. New York, Springer.

Emingil, G., G. Atilla, et al. (2004). "The effect of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels in chronic periodontitis." J Periodontol **75**(1): 106-115.

Emingil, G., G. Atilla, et al. (2004). "Effectiveness of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and gingival crevicular fluid laminin-5 gamma2 chain levels in chronic periodontitis." J Periodontol **75**(10): 1387-1396.

Gapski, R., J. L. Barr, et al. (2004). "Effect of systemic matrix metalloproteinase inhibition on periodontal wound repair: a proof of concept trial." J Periodontol **75**(3): 441-452.

- Gapski, R., H. Hasturk, et al. (2009). "Systemic MMP inhibition for periodontal wound repair: results of a multi-centre randomized-controlled clinical trial." J Clin Periodontol **36**(2): 149-156.
- Gemmell, E., K. Yamazaki, et al. (2002). "Destructive periodontitis lesions are determined by the nature of the lymphocytic response." Crit Rev Oral Biol Med **13**(1): 17-34.
- Hannas, A. R., J. C. Pereira, et al. (2007). "The role of matrix metalloproteinases in the oral environment." Acta Odontol Scand **65**(1): 1-13.
- Kinane, D. F. (2000). "Regulators of tissue destruction and homeostasis as diagnostic aids in periodontology." Periodontol 2000 **24**: 215-225.
- Kinane, D. F., I. B. Darby, et al. (2003). "Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance." J Periodontal Res **38**(4): 400-404.
- Kinane, D. F., M. Podmore, et al. (2001). "Etiopathogenesis of periodontitis in children and adolescents." Periodontol 2000 **26**: 54-91.
- Lee, H. M., S. G. Ciancio, et al. (2004). "Subantimicrobial dose doxycycline efficacy as a matrix metalloproteinase inhibitor in chronic periodontitis patients is enhanced when combined with a non-steroidal anti-inflammatory drug." J Periodontol **75**(3): 453-463.
- Lima, L. L., P. F. Goncalves, et al. (2008). "Guided tissue regeneration may modulate gene expression in periodontal intrabony defects: a human study." J Periodontal Res **43**(4): 459-464.
- Loos, B. G. and S. Tjoa (2005). "Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid?" Periodontol 2000 **39**: 53-72.
- Mantyla, P., M. Stenman, et al. (2003). "Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis." J Periodontal Res **38**(4): 436-439.
- Potempa, J., A. Banbula, et al. (2000). "Role of bacterial proteinases in matrix destruction and modulation of host responses." Periodontol 2000 **24**: 153-192.
- Preshaw, P. M., A. F. Hefti, et al. (2004). "Subantimicrobial dose doxycycline as adjunctive treatment for periodontitis. A review." J Clin Periodontol **31**(9): 697-707.
- Riccia, D. N., F. Bizzini, et al. (2007). "Anti-inflammatory effects of *Lactobacillus brevis* (CD2) on periodontal disease." Oral Dis **13**(4): 376-385.
- Roy, S., K. Trudeau, et al. (2010). "New insights into hyperglycemia-induced molecular changes in microvascular cells." J Dent Res **89**(2): 116-127.
- Ryan, M. E. and L. M. Golub (2000). "Modulation of matrix metalloproteinase activities in periodontitis as a treatment strategy." Periodontol 2000 **24**: 226-238.

- Sorsa, T., L. Tjaderhane, et al. (2004). "Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases." Oral Dis **10**(6): 311-318.
- Staab, B., S. Eick, et al. (2009). "The influence of a probiotic milk drink on the development of gingivitis: a pilot study." J Clin Periodontol **36**(10): 850-856.
- Steinsvoll, S., K. Helgeland, et al. (2004). "Mast cells--a role in periodontal diseases?" J Clin Periodontol **31**(6): 413-419.
- Verstappen, J. and J. W. Von den Hoff (2006). "Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): their biological functions and involvement in oral disease." J Dent Res **85**(12): 1074-1084.

