



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGIA**

**PATOGÊNESE
DAS
DOENÇAS PERIODONTAIS**

Marcelo Giordani da Rosa

**Monografia apresentada ao Curso de
Especialização em Periodontia de
Departamento de Estomatologia da
Universidade Federal de Santa Catarina
para obtenção do Título de Especialista em
Periodontia.**

Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Souza Magini

**Florianópolis
1999**

PATOGÊNESE
DAS
DOENÇAS PERIODONTAIS

Ao meu pai, Paulo; à minha mãe,
Marga, que nunca mediram esforços para
permitir minha formação.

À minha esposa, Fernanda; ao meu filho, João Marcelo, agradeço o apoio, o estímulo e a compreensão nos momentos em que a necessidade obrigou minha ausência.

O amor, a serenidade e a confiança permitiram a concretização deste projeto profissional.

Ao meu professor orientador, Dr. Ricardo de Souza Magini, que ajudou a realizar este trabalho e a perceber o quanto é importante pesquisar, meu respeito.

Aqueles que estão enamorados pela prática sem ciência são como um piloto que embarca em um barco sem timão e nunca tem certeza de para onde vai. A prática sempre deve basear-se em um sólido conhecimento da teoria.

LEONARDO DA VINCI

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 INFLAMAÇÃO	10
2.1 Inflamação aguda	10
2.1.1 Evento vascular	11
2.1.2 Exsudação plasmática	11
3 TRANSMIGRAÇÃO CELULAR E QUIMIOTAXIA	13
4 EXSUDATO INFLAMATÓRIO	13
5 DOENÇA PERIODONTAL INFLAMATÓRIA CRÔNICA	15
5.1 Etiologia	15
5.2 Patogênese da doença periodontal inflamatória crônica	16
5.2.1 Agressão direta	16
5.2.2 Agressão Indireta	18
6 MECANISMOS DE DESTRUIÇÃO DA MATRIZ DO TECIDO CONJUNTIVO NA PERIODONTITE	22
6.1 A natureza das metaloproteinases da matriz e as suas ações so - bre os componentes estruturais do tecido	22
6.2 Ativação das metaloproteinases latentes para proteinases eficazes	23
6.3 Controle da síntese das metaloproteinases e dos inibidores pelos hormônios, citocinas e matriz extracelular	24
6.4 Contribuição de outras classes de proteinases e o caminho para o desdobramento do colágeno	25
6.5 Equilíbrio das metaloproteinases e dos inibidores na remodela- gem do tecido <i>in vivo</i>	26
6.6 Provável seqüência de eventos para a ruptura do tecido na doença periodontal	26
6.7 Metaloproteinases e inibidores na periodontite	28
6.8 A imunolocalização celular das metaloproteinases na doença pe- riodontal	29
6.9 Citocinas e a doença periodontal	29
6.10 Controle das atividades da metaloproteinase através de medica- mentos potentes e suas implicações clínicas	30

7 MECANISMOS DA DESTRUIÇÃO DO OSSO ALVEOLAR NA PERIODONTITE	33
7.1 Estrutura e remodelagem óssea	33
7.2 Fatores reguladores da reabsorção óssea	35
7.2.1 Interleucina-1 (IL-1)	36
7.2.2 Interleucina-6 (IL-6)	37
7.2.3 Fator de necrose tumoral alfa e linfotoxina	37
7.3 Prostaglandinas e outros metabólitos do ácido araquidônico	38
7.4 Esteróides sexuais	38
7.5 Fatores reguladores da formação óssea	39
7.5.1 Proteínas morfogenéticas do osso	39
7.6 Mudanças ultra-estruturais na doença periodontal	40
7.7 Fatores envolvidos na destruição durante a doença periodontal	41
8 AVANÇOS NA PATOGÊNESE DA PERIODONTITE: DESENVOLVIMENTOS, IMPLICAÇÕES CLÍNICAS E DIREÇÕES FUTURAS	44
8.1 Abordagem teórica	44
8.2 Desafio microbiano	46
8.3 A placa microbiana subgingival é um biofilme	47
8.4 A periodontite é intensamente associada com as principais doenças sistêmicas	49
8.5 Transmissão bacteriana	50
8.6 O único papel da <i>P. gingivalis</i>	51
8.7 Interações parasita-hospedeiro estão em equilíbrio biológico	52
8.8 Algumas pessoas desenvolvem gengivite e outras periodontite	53
8.9 Mecanismos de destruição do tecido na periodontite	60
8.10 Transição de um sítio periodontal estável para a progressão de doença ativa	61
9 CONCLUSÕES	64
10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66

1. INTRODUÇÃO

A patogênese das doenças periodontais foi encaminhada racionalmente pela primeira vez por Page & Schroeder em 1976 (93). Inúmeros estudos a respeito da patogênese tem sido realizados desde então (12, 40, 90, 111, 130). Embora os detalhes sejam escassos, os princípios gerais e a maioria das conclusões são aceitas até hoje.

Atualmente, uma visão mais completa e complexa da patogênese das doenças periodontais está surgindo. Existe a possibilidade de abordar a patogênese não somente a nível celular, mas ampliar o espectro de avaliação a nível molecular e genético.

Durante as décadas de 70 e 80, grandes progressos foram feitos no esclarecimento da natureza infecciosa das doenças periodontais. Na década de 90, começamos a compreender que embora a ação bacteriana seja essencial, ela isoladamente não é suficiente para a ocorrência da doença. Observamos a influência de fatores como: hereditariedade, stress, tabagismo, doenças sistêmicas, que são determinantes na ocorrência, progressão e severidade da periodontite.

Estas observações tem conduzido a mudanças nos conceitos de prevenção e tratamento das doenças periodontais.

Informações tem sido obtidas a respeito de como as bactérias provocam a formação de bolsas periodontais, transformação do epitélio juncional em epitélio da bolsa, destruição do tecido conjuntivo gengival, ligamento periodontal e reabsorção do osso alveolar.

Além da ação direta, as bactérias também promovem destruição tecidual de maneira indireta, ativando componentes do sistema de defesa do hospedeiro. O mesmo sistema de defesa que promove proteção é responsável pela destruição.

Atualmente, está evidente que a periodontite não é uma doença isolada, mas uma família de doenças intimamente relacionadas, que podem variar em sua etiologia, história natural e resposta à terapia.

Desta forma temos por objetivo com este trabalho reunir estudos realizados por diversos autores nos quais estão relatados vários eventos responsáveis pela patogênese das doenças periodontais, tendo sempre em mente que o resultado clínico será a soma de todos os fatores mencionados.

2. INFLAMAÇÃO

A inflamação representa a forma de defesa mais básica dos seres vivos. O ambiente desta reação é sempre representado pelo tecido conjuntivo, sangue e microcirculação.

A inflamação se manifesta por sintomas locais e sistêmicos, os sintomas locais são representados pelo rubor, calor, tumor e dor. Os sistêmicos, pela febre, astenia, cefaléia e prostração.

Seja qual for a natureza do agente flogógeno (agente capaz de induzir resposta inflamatória), os eventos iniciais da inflamação serão sempre representados pela vasodilatação e aumento de permeabilidade e pela transmigração celular.

A inflamação se caracteriza por ser um processo dinâmico que conduz ao processo de cura após a eliminação do agente flogógeno.

2.1. Inflamação Aguda

A congestão vascular é o primeiro evento da inflamação aguda. Inicialmente consiste apenas em uma hiperemia ativa restrita à área lesada. Nas fases mais avançadas a hiperemia ativa é agravada pela superposição da hiperemia passiva, devido ao desenvolvimento da trombose local. Como consequência surge a exsudação plasmática e a transmigração celular, que completam o quadro fisiológico da inflamação aguda.

2.1.1. Evento Vascular

O processo inflamatório agudo é caracterizado por dois eventos vasculares principais:

- exsudação plasmática
- transmigração celular

A exsudação plasmática e a transmigração celular dependem da vasodilatação e do aumento de permeabilidade.

2.1.2. Exsudação Plasmática

A vasodilatação e o aumento da permeabilidade conduzem à exsudação plasmática, que constitui o edema ou exsudato inflamatório.

Clinicamente o edema causa tumefação dos tecidos inflamados.

O aumento da permeabilidade vascular ocorre quando os vasos, particularmente capilares e vênulas, ficam expostos à ação de certas substâncias químicas liberadas ou formadas enzimaticamente no local da lesão flogógena, denominadas “mediadores químicos da inflamação”.

- Aminas vaso-ativas
- Peptídeos básicos dos neutrófilos
- Cininas
- Anafilatoxina
- Fator de permeabilidade do plasma diluído
- Substância de ação lenta da anafilaxia (SRS-A)
- Prostaglandinas
- Fator de permeabilidade dos linfonodos

2.1.1.1. Aminas Vaso-ativas

As aminas vaso-ativas compreendem a histamina e a serotonina.

A histamina é o fator de permeabilidade mais importante das inflamações alérgicas, cujo efeito é rapidamente anulado pela ação dos anti-histamínicos.

2.1.1.2. Cininas

São peptídios vaso-ativos derivados de um precursor existente no plasma, denominado bradicininogênio ou cininogênio.

São substâncias fortemente ativas na permeabilidade vascular. Sua ação se manifesta ao nível das vênulas à semelhança das aminas vaso-ativas.

2.1.1.3. Prostaglandinas

São substâncias derivadas dos ácidos graxos e portadoras de efeito biológico complexo. No processo inflamatório agudo as prostaglandinas da série E (PGE) são detectadas, via de regra, após a liberação da histamina e a formação das cininas.

As prostaglandinas da série E são agentes vaso-dilatadores de grande potência, mas parecem não influir muito no aumento da permeabilidade vascular, razão pela qual na inflamação sua importância maior reside no papel de modular a ação de outros mediadores.

3. Transmigração Celular e Quimiotaxia

Além da exsudação plasmática, outra consequência natural do aumento da permeabilidade vascular é a transmigração de células hematógenas para o ambiente intersticial. Os elementos leucocitários são os mais importantes neste fenômeno. Nas infecções bacterianas, a transmigração leucocitária ocorre na fase tardia da permeabilidade vascular, sendo efetuada no setor das vênulas da mesma forma que a exsudação do líquido plasmático.

A migração dos leucócitos da corrente sanguínea para fora do vaso e para o foco inflamatório é guiada pelo mecanismo da quimiotaxia. Os granulócitos neutrófilos respondem rapidamente à estimulação quimiotática desenvolvendo uma velocidade de movimentação muito maior que os monócitos e linfócitos. Talvez esta seja uma das razões pelas quais os neutrófilos são as primeiras células a surgir na inflamação aguda.

Dentre os fatores que atuam na quimiotaxia dos granulócitos neutrófilos destacam-se os derivados da ativação do complemento. Os originados da destruição tecidual e os oriundos do metabolismo bacteriano.

Os granulócitos neutrófilos, quando no ambiente intersticial sobrevivem de 48 a 72 horas. A exsudação neutrofílica é um processo contínuo, durante a fase aguda da inflamação, o desaparecimento dos neutrófilos do foco inflamatório não se faz abruptamente. Ao mesmo tempo do desaparecimento dos neutrófilos, as células mononucleadas afluem gradativamente para a área inflamada.

4. Exsudato Inflamatório

O extravasamento de plasma rico em íons e macromoléculas e a transmigração leucocitária decorrente do aumento da permeabilidade vascular criam no ambiente intersticial o exsudato

inflamatório. O exsudato inflamatório representa uma suspensão celular constituída pelo plasma e células sanguíneas extravasadas.

No caso de inflamação infecciosa o exsudato inflamatório tende a envolver os elementos infectantes. A textura tecidual é um elemento que pode facilitar ou dificultar a penetração do exsudato.

O fenômeno da penetração do exsudato para os tecidos mais distantes do foco inflamatório inicial é muito importante para certas lesões inflamatórias como a periodontite, onde a penetração se faz à custa de destruições enzimáticas das fibras colágenas perivasculares pelas células do próprio exsudato inflamatório.

5. DOENÇA PERIODONTAL INFLAMATÓRIA CRÔNICA

A gengivite marginal crônica e a periodontite são as doenças inflamatórias crônicas mais comumente encontradas na cavidade bucal. Ambas obedecem à mesma etiologia, ou seja, formação e deposição de placa bacteriana dental e divergem, apenas, quanto ao grau de envolvimento das estruturas periodontais.

Do ponto de vista conceitual, são doenças que apresentam caráter inflamatório local de longa evolução, subagudo ou crônico, vez por outra supurativo, de etiologia complexa, realçando como agressão predominante o dano sobre a mucosa gengival (gengivite) ou sobre esta, ligamento periodontal e osso alveolar (periodontite), determinadas alterações funcionais às vezes irreversíveis do aparelho mastigatório.

5.1. Etiologia

A placa dental bacteriana constitui o fator etiológico básico da gengivite marginal crônica. Existe uma relação direta entre a formação da placa bacteriana dental e o desenvolvimento da inflamação gengival.

A placa bacteriana representa, verdadeiramente, um sistema ecológico dinâmico e complexo, constituído por microrganismos, produtos derivados do seu metabolismo, constituintes derivados da saliva e fluido gengival, células epiteliais em fase de autólise e granulócitos neutrófilos.

5.2. Patogênese da Doença Periodontal Inflamatória Crônica

Embora não haja dúvida quanto ao papel da placa bacteriana na etiologia da inflamação periodontal, o mecanismo pelo qual a placa atua, produzindo a gengivite e a periodontite, não está ainda estabelecido em definitivo.

Embora a patogenicidade das bactérias da placa tenha sido provada em inúmeros experimentos, é indiscutível a sua fraca invasividade, tendo mesmo a presença ocasional destas bactérias na lâmina própria e no epitélio de gengivas inflamadas sido admitida como um mero artefato de técnica.

Como então explicar o papel das bactérias da placa na patogênese da doença periodontal inflamatória? Dois mecanismos são usualmente utilizados para explicar o modo pelo qual os microrganismos da placa atuam produzindo inflamação nos tecidos periodontais:

- * agressão direta
- * agressão indireta

5.2.1. Agressão direta

Diante da sua fraca invasividade, a agressão direta das bactérias da placa se dá pela liberação de toxinas e enzimas histolíticas que se difundem através das estruturas gengivais, causando sua destruição e produzindo reação inflamatória.

Dentre as substâncias tóxicas da placa, potencialmente ativas na agressão direta às estruturas periodontais temos enzimas, toxinas e produtos finais do metabolismo bacteriano tais como sulfeto de hidrogênio, indol, escatol, ácidos graxos e poliaminas.

As endotoxinas, principal agente responsável pela agressão direta, são complexos macromoleculares constituídos por lipopolissacarídeos e proteínas que atuam como agentes

flogógenos potentes na intimidade dos tecidos. São derivadas da parede de microrganismos gram-negativos durante a autólise dos mesmos. Ao nível dos tecidos as endotoxinas ativam o sistema complemento pela via alternativa, liberando componentes biologicamente ativos (C3a, C5a e C567) que atraem granulócitos neutrófilos e macrófagos e aumentam a dilatação e a permeabilidade dos vasos.

Os componentes C3a e C5a exibem propriedades semelhantes à da anafilatoxina. De fato, estes componentes, ativados pelas endotoxinas, induzem degranulação mastocitária, liberando histamina e heparina. As endotoxinas estimulam também a reabsorção óssea por agir diretamente sobre as células ósseas ou indiretamente, através da heparina e participando do mecanismo de progressão da gengivite crônica e da periodotite. Como as endotoxinas são representadas por complexos macromoleculares, é improvável que sua difusão para os tecidos periodontais possa ocorrer sem o estabelecimento de uma lesão inicial, tipo aumento de permeabilidade, a qual é propiciada pela ação de enzimas da placa.

Bactérias da placa produzem enzimas com poderes lesivos para as estruturas periodontais, entre as quais encontramos a hialuronidase, condroitinsulfatase, beta-glucoronidase, proteases e collagenase. Estas enzimas atacam diversos elementos estruturais do periodonto, como as proteínas colagênicas e não-colagênicas e as proteoglicanas, sendo, portanto, consideradas como enzimas histolíticas. Outras enzimas, também produzidas pelas bactérias da placa, despolimerizam a fibrina exacerbando o processo inflamatório, como a estafiloquinase e a estreptoquinase; ou atuam sobre as membranas celulares, liberando mediadores químicos que agravam o processo inflamatório, como a lecitinase. A hialuronidase, a beta-glucoronidase e a condroitinsulfatase despolimerizam os polissacarídeos da substância cimentante do epitélio do sulco, causando a separação das células e o aumento excessivo da permeabilidade deste epitélio. O aumento da permeabilidade do epitélio do sulco facilita a penetração de grandes moléculas na lâmina própria

da gengiva, como as endotoxinas e outros produtos tóxicos do metabolismo bacteriano, que iniciam a reação inflamatória no tecido conjuntivo subepitelial.

Resumidamente: as enzimas histolíticas da placa bacteriana dental são os principais fatores a agredir as estruturas gengivais, provocando aumento da permeabilidade no epitélio do sulco e no tecido conjuntivo subjacente e alterações bioquímicas nos componentes proteicos deste último tecido. Esta alteração bioquímica no tecido conjuntivo adjacente ao epitélio do sulco induz imediata vasodilatação e aumento de permeabilidade na microcirculação local, resultando na exsudação das primeiras porções de plasma para o ambiente intersticial. Com a permeabilidade aumentada do epitélio do sulco, macromoléculas oriundas da placa, como as endotoxinas, ganham acesso fácil ao tecido conjuntivo subepitelial onde definitivamente se inicia o processo inflamatório gengival. O plasma extravasado, entrando em contato com as proteínas modificadas do tecido conjuntivo, com as endotoxinas e outros produtos liberados pelas bactérias da placa, ativa o fator Hageman e o sistema complemento, dando como resultado a formação não só dos primeiros mediadores farmacológicos específicos da inflamação gengival como também de substâncias quimiotáticas para os granulócitos neutrófilos.

5.2.2. Agressão indireta

A agressão indireta se faz pela ativação de enzimas histolíticas endógenas ou, provavelmente pelo desenvolvimento de reações imunopatológicas nos tecidos periodontais.

A gengiva possui collagenase e hialuronidase sob a forma inativa que, uma vez estimuladas pelos componentes bacterianos da placa, passam para a forma ativa e atuam sobre os próprios componentes teciduais a que pertencem, aumentando o espectro de agressão e intensificando o processo inflamatório.

As reações imunitárias aos antígenos bacterianos da placa se processam após a inflamação aguda inicial. As reações imunológicas são basicamente de caráter protetor. Contudo, é possível que a contínua estimulação antigênica da placa acabe por gerar mecanismos imunopatológicos que, com o tempo, se convertem nos elementos efetores da destruição tecidual na doença periodontal inflamatória.

Portanto, a patogênese e a evolução da doença periodontal inflamatória, mais do que uma simples consequência da agressão direta sobre os tecidos periodontais, dependem também dos fenômenos destrutivos relacionados aos mecanismos locais de defesa representados pela própria reação inflamatória e pelos processos imunopatológicos ou de hipersensibilidade.

Vários mecanismos imunopatológicos podem estar envolvidos na patogênese da doença periodontal inflamatória. Estes mecanismos podem ser mediados por anticorpos, hipersensibilidade do tipo imediato (humoral) ou por células, hipersensibilidade do tipo tardio (celular).

A hipersensibilidade do tipo tardio é mediada pelos linfócitos-T, e pode representar um dos mecanismos efetores da destruição tecidual e da cronicização do processo inflamatório nas gengivites e periodontites. Estudos imunopatológicos indicam que a hipersensibilidade tardia atua como mecanismo efetor importante da destruição tecidual, principalmente nas fases iniciais da gengivite marginal crônica, cujo infiltrado inflamatório é predominantemente constituído por linfócitos-T. Linfócitos obtidos de portadores de gengivite e periodontite, quando estimulados *in vitro* por antígenos da placa, sofrem transformação blástica. O grau desta transformação correlaciona-se com a severidade da doença periodontal inflamatória. Durante a transformação blástica, os linfócitos-T elaboram moléculas biologicamente ativas (linfocinas) que respondem como elementos mediadores da resposta exsudativa celular e da destruição tecidual em certas fases da inflamação. Na doença periodontal inflamatória alterações são atribuídas às linfocinas: degeneração fibroblástica, dissolução das fibras colágenas e reabsorção óssea.

Os fibroblastos imunologicamente alterados, perdem a capacidade de síntese da proteína colagênica e rompem o equilíbrio fisiológico de renovação do colágeno (collagen turnover), resultando em sua perda global na área envolvida pelo infiltrado inflamatório crônico. As linfocinas encerram também componentes que estimulam macrófagos e neutrófilos a destruir as fibras colágenas através da secreção de colagenase e osteoclastos a induzir reabsorção óssea.

Diversos fatos parecem também sugerir a participação da hipersensibilidade humoral (linfócito B) na patogênese da doença periodontal inflamatória. A substância fundamental da gengiva normal e, em particular, da gengiva inflamada, é permeável às imunoglobulinas oriundas do soro.

A maior parte das imunoglobulinas encontradas nestas regiões é da classe IgG, seguindo-se pela ordem a IgM e a IgA. Estas imunoglobulinas presentes no exsudato inflamatório reagem com os antígenos da placa bacteriana dental ao nível do sulco gengival, epitélio juncional e tecido conjuntivo subepitelial, formando imunocomplexos fixadores de complemento que podem lesar localmente os tecidos, intensificando o processo inflamatório.

A hipersensibilidade mediada por anticorpos se processa de três modos diferentes, segundo o mecanismo da reação: hipersensibilidade tipo I ou anafilática, hipersensibilidade tipo II ou citotóxica e hipersensibilidade tipo III ou mediada por imunocomplexos.

A hipersensibilidade tipo I, conhecida como anafilática, alergia atópica ou simplesmente anafilaxia, se processa nos indivíduos sensibilizados, ou seja, nos portadores de anticorpos capazes de desencadear reação do tipo anafilático na eventualidade de uma exposição à segunda dose do antígeno (dose desencadeante). No homem, os anticorpos envolvidos na reação anafilática são representados pela IgE. Estes anticorpos se caracterizam pela propriedade de se fixar na membrana de certas células, como mastócitos e basófilos. Quando a dose desencadeante do antígeno atinge as células, às quais estão fixos estes anticorpos formados após o estímulo sensibilizante, dá-se a liberação de substâncias farmacologicamente ativas, como histamina,

substância de ação lenta da anafilaxia (SRS-A) e fator quimiotático para eosinófilos (ECF-A), que prontamente desenvolvem violenta reação inflamatória nos órgãos de choque, caracterizados pela riqueza em mastócitos.

A hipersensibilidade tipo II, ou citotóxica, consiste na reação de anticorpos contra antígenos representados pela própria membrana celular ou por substâncias incorporadas à superfície celular, culminando a reação pela destruição da célula portadora do antígeno. O anticorpo envolvido pertence usualmente à classe IgG ou IgM. Nas gengivites e nas periodontites a união dos antígenos provenientes da placa com a superfície das células gengivais poderia induzir a formação de anticorpos citotóxicos que reagiriam com as células portadoras destes antígenos fixando complemento e levando-as à completa destruição. A presença de antígenos, complemento e anticorpos tipo IgG e IgM na lâmina própria da gengiva, no epitélio e no fluido do sulco gengival, torna provável a participação deste mecanismo imunopatológico na patogênese das lesões inflamatórias do periodonto.

A hipersensibilidade tipo III, na forma de reação de Arthus, representa o mecanismo imunopatológico imediato mais discutido a propósito da patogenia da doença periodontal inflamatória. O anticorpo que produz o fenômeno deve ser do tipo precipitante e fixar complemento. Os anticorpos envolvidos são IgG e IgM, ou seja, anticorpos capazes de fixar complemento.

A reação de Arthus se processa mediante a formação e deposição de imunocomplexos na parede dos pequenos vasos com fixação de complemento. Havendo fixação de complemento os complexos Ag-Ac-C tornam-se quimiotáticos para os granulócitos neutrófilos, atraindo-os para o local onde estes imunocomplexos se depositam. Os granulócitos neutrófilos fagocitam então os complexos imunes com grande liberação de enzimas lisossomais que agravam a vasculite, produzindo reações focais necrótico-hemorrágicas. A destruição tecidual é uma consequência, portanto, da liberação de enzimas histolíticas por parte dos granulócitos neutrófilos.

6. MECANISMOS DE DESTRUIÇÃO DA MATRIZ DO TECIDO CONJUNTIVO NA PERIODONTITE

A remodelagem dos tecidos conjuntivos ocorre durante o desenvolvimento e crescimento normais. A reabsorção é causada pelas próprias células do tecido conjuntivo e em situações inflamatórias também por células infiltrantes. A remodelagem do tecido é geralmente regulada por uma reciprocidade complexa, envolvendo a produção de enzimas, ativadores, inibidores e moléculas inibidoras tais como citocinas e fatores de crescimento. A destruição acelerada dos tecidos conjuntivos, que ocorre em situações patológicas tais como as doenças periodontais, pode ser considerada como uma falha dos mecanismos normais de regulação.

As endopeptidases (ou proteinases) são as enzimas chaves nos processos de degradação dos tecidos, visto que os componentes da proteína da maioria das matrizes são os determinantes da estrutura e função do tecido. Os papéis relativos *in vivo* variam com a situação, dependendo do ambiente do tecido e dos tipos de células envolvidas e particularmente da presença ou não de células inflamatórias (13, 14, 79, 81, 101).

6.1. A natureza das metaloproteinases da matriz e as suas ações sobre os componentes estruturais do tecido

Os membros da família das metaloproteinases (referidas como collagenases), são principalmente, mas não exclusivamente, sintetizadas pelas células do tecido conjuntivo. As metaloproteinases podem também ser sintetizadas pelas células hematopoiéticas, incluindo células como monócitos, macrófagos, queratinócitos e as endoteliais e muitos tipos de tumores: elas são proteinases unidas por íons metálicos, secretadas como formas de pró-enzima, requerendo

ativação extracelular. As metaloproteinases podem digerir todas as macromoléculas das matrizes do tecido, embora elas não sejam necessariamente produzidas juntas em nenhuma situação específica. A família tem subgrupos principais, as colagenases intersticiais (MMP-1, MMP-8 e MMP-13), as gelatinases (MMP-2 e MMP-9; também chamadas de colagenases tipo IV), as estromelisinases (MMP-3, MMP-10 e MMP-11) e o grupo ligado à membrana (MMP-14, MMP-15, MMP-16 e MMP-17). As propriedades proteolíticas dentro de cada grupo de metaloproteinase variam um pouco, ou com as espécies ou com o tipo de célula. As diferenças na especificidade do substrato envolvem diferenças definidas entre as suas estruturas primárias (117).

6.2. Ativação das metaloproteinases latentes para proteinases eficazes

Uma característica significativa das metaloproteinases é que elas estão ocultas em formas latentes e tem um peptídeo contendo uma cistina conservada na região homóloga. A cistina está ligada ao zinco do sítio ativo nas formas latentes, e presume-se que a dissociação da tiol cistina, ou pela clivagem proteolítica no propeptídeo ou pela ação dos agentes tais como acetato aminofenilmercúrio-4 (*in vitro*) e radicais livres, leva à exposição do local ativo (15). A plasmina, uma proteinase derivada do plasminogênio, foi considerada eficaz na ativação da colagenase (80). Este processo de ativação acontece perto ou na superfície da célula, onde o ativador, plasminogênio está ligado ao seu receptor. Existe pouca evidência de que a própria plasmina é uma proteinase eficaz na degradação da matriz.

As estromelisinases podem ser ativadas por muitas proteinases com diferentes especificidades de substrato, e em sistemas *in vitro* estromelisinase-1 é necessária para uma ativação eficiente da colagenase. Existe também evidência de que as proteases exógenas, tais como as de

bactérias periodontalmente patogênicas, podem agir como ativadores da pró-colagenase (115) e muitas outras proteinases foram sugeridas como ativadores em situações específicas.

6.3. Controle da síntese das metaloproteinases e dos inibidores pelos hormônios, citocinas e matriz extracelular

As metaloproteinases e seus inibidores são reguladas por interações complexas entre citocinas, fatores de crescimento e hormônios, alguns dos quais são específicos dos tipos de células. Muitos fatores são produtos dos monócitos e dos macrófagos e sua produção em situações inflamatórias são um passo chave no início da síntese das metaloproteinases e na degradação do tecido (103).

Estudos recentes com fibroblastos gengivais humanos sugerem que a Interleucina-1 (IL-1) pode agir para estimular a colagenase. Estas então, interagem em locais promotores de gens de colagenase; e foi então sugerido que este caminho de ativação pode ter um papel essencial na patogênese da periodontite (121).

O fator de crescimento alfa transformado pode ser especialmente importante, visto que este pode modular a síntese induzida de citocinas das metaloproteinases e dos inibidores (7, 31).

As metaloproteinases são freqüentemente sintetizadas coordenadamente em situações experimentais simples mas a sua expressão em tecido *in vivo* é muito mais complexa. Estudos da distribuição das metaloproteinases e dos inibidores no desenvolvimento do côndilo mandibular (16) mostram que cada metaloproteinase tem seu próprio padrão de expressão. Estes resultados são condizentes com a idéia de papéis específicos para as metaloproteinases individuais. O papel dos inibidores das metaloproteinases pode ser o de controlar fortemente a atividade da mesma, ambos no nível de ativação e de degradação subsequente do substrato. As metaloproteinases

podem ser ativas somente em sítios específicos onde as concentrações do inibidor, comparadas às enzimas, são reduzidas.

Um trabalho recente sugeriu que a expressão da proteinase e dos inibidores da proteinase em células do ligamento periodontal humano podem ser moduladas pelos fragmentos de fibronectina, moléculas encontradas na matriz extracelular.

6.4. Contribuição de outras classes de proteinases e o caminho para o desdobramento do colágeno

Everts et al. (33), estudaram em detalhe a degradação do colágeno na reabsorção óssea. A degradação claramente envolveu as metaloproteinases e certas cistinas, e outros estudos posteriores mostraram que ambas as classes de proteinase são importantes.

De fato, as evidências mostram que há caminhos extracelulares e intracelulares para a degradação do colágeno e a reabsorção do osso ilustra bem a grande complexidade dos processos de degradação em tecidos específicos (28). Estudos recentes mostram que os inibidores específicos de uma cistina (catepsina B) e as metaloproteinases (colagenase e galatinases A e B) podem bloquear a reabsorção *in vitro* (50, 51). Pesquisas de Everts et al (34), sugerem que, em situações onde há uma alta transferência de matriz (como uma inflamação), as metaloproteinases são especialmente importantes num caminho extracelular de degradação. Onde a transferência é baixa, Everts et al. (27), sugerem que um caminho intracelular para a reabsorção, particularmente para o colágeno é de muita importância. A evidência resultante destes estudos experimentais, sugere que a transferência normal de colágeno no ligamento periodontal pode acontecer amplamente por este caminho intracelular (34).

6.5. Equilíbrio das metaloproteinases e dos inibidores na remodelagem do tecido *in vivo*

Um desequilíbrio dos inibidores sobre as proteinases parece ser um tema constante na rápida degradação do tecido. Fica claro que nenhuma proteinase pode ser considerada de extrema importância na transferência de matriz e que muitos eventos proteolíticos explicam melhor como a destruição da matriz acontece. Nós consideramos que, em situações normais, sem células invasoras, a reabsorção é iniciada por um ataque específico sobre as macromoléculas pelas metaloproteinases, sintetizada pelas células estimuladas do tecido. O ataque inicial sobre a integridade das macromoléculas extracelulares facilita uma degradação extracelular posterior e também conduz à qualquer degradação intracelular pelos fagócitos. Estes processos podem ser aumentados pela infiltração das células inflamatórias, pelo dano mecânico e pela infecção bacteriana.

Um estudo detalhado de osteoartrite e artrite reumatóide confirmou recentemente que um excesso de metaloproteinase sobre os inibidores da mesma pode ser significativa para a degradação da cartilagem. Tal desequilíbrio pode ser verdadeiro para as condições relacionadas com a periodontite.

Pourtaghi et al (99), mostraram que a terapia antimicrobiana aumentou os níveis de inibidores da metaloproteinase e diminuiu os níveis de estromelisin no fluido gengival.

6.6. Provável seqüência de eventos para a ruptura do tecido na doença periodontal

Muitos estudos anteriores enfocaram mais a ação das proteinases lançadas por bactérias, leucócitos polifomonucleares e macrófagos do que as proteinases derivadas do tecido. A evidência agora sugere que a invasão dos tecidos gengivais por bactéria intacta pode ocorrer em

formas mais severas e avançadas da doença periodontal, mas muitas observações sustentam a idéia de que a invasão bacteriana não é uma característica evidente da periodontite. Sugere-se que os periodontopatógenos poderiam mediar a degradação do tecido conjuntivo nas doenças periodontais pela capacidade dos antígenos, de estimular a produção de citocina pelos fagócitos mononucleares circulantes (69).

Estas citocinas e as prostaglandinas poderiam por sua vez induzir a síntese da metaloproteinase pelas células gengivais (e macrófagos) por conseguinte , iniciando a degradação (49, 69, 71) do ligamento periodontal e um aumento na reabsorção óssea. Cada um dos principais tipos de células dos tecidos periodontais é capaz de expressar um complemento único de metaloproteinase quando estimulado (13). Certamente, a presença contínua da bactéria é essencial para a manutenção da inflamação e a alteração da defesa do hospedeiro.

Heath et al. (49), descobriram que os antígenos provenientes da parede da bactéria presente na placa bacteriana, podem induzir à ruptura do tecido conjuntivo por um mecanismo que envolve uma interação primária com as células mononucleares circulantes. Concluíram que se o mecanismo tem um papel importante na destruição do tecido conjuntivo durante a periodontite, então a doença provavelmente pode ser ativada por uma grande variedade de bactérias ou por combinações de diferentes bactérias. As citocinas específicas responsáveis permanecem caracterizadas incompletamente, mas muita evidência circunstancial e alguma evidência direta sugerem que a IL-1 é importante. As citocinas por sua vez podem estimular a produção de prostaglandina E2 , mas nem todas as ações das interleucinas são mediadas via prostaglandinas.

6.7. Metaloproteinases e inibidores na periodontite

Uma relação foi estabelecida entre as formas latentes e ativas de colagenase extraída dos tecidos gengivais e o grau de inflamação (89). A atividade da colagenase foi identificada não só na cultura gengival mas também no fluido crevicular gengival à níveis que se correlacionam com a atividade da doença : colagenase ativa pode ser encontrada no fluido crevicular de pacientes com periodontite em maior quantidade do que nos pacientes controle (61, 127). Esta colagenase parece ser só parcialmente derivada do tecido e na sua maioria dos leucócitos polimorfonucleares (127) do infiltrado inflamatório. Os inibidores de metaloproteinase poderiam ser medidos somente em pacientes saudáveis ou em sítios clinicamente saudáveis (61). Em recentes estudos clínicos , Lee et al. (62), mostraram uma boa correlação entre o MMP-8 ativo e a atividade da doença enquanto que Hayakawa et al. (47), encontraram níveis de TIMP-1 significativamente mais baixos na saliva total dos pacientes com a doença comparados com pacientes normais saudáveis. Assim, parece que a atividade da doença periodontal indica um desequilíbrio das proteinases sobre os inibidores. No último estudo, mudanças recíprocas em TIMP-1 e níveis de colagenase foram observadas depois da terapia. Foi sugerido recentemente que um desequilíbrio relativo de estromelinas sobre os inibidores das metaloproteinases pode ser uma marca significativa de tecidos afetados pela periodontite, como também é freqüente na artrite.

Van der Zee et al. (126), demonstraram que um tecido conjuntivo frouxo pode ser depósito de pró-colagenase e esta pode ser ativada sob certas condições. Assim uma ruptura de colagenase-induzida poderia acontecer sem que lá necessariamente haja qualquer síntese desta metaloproteinase. Se estas descobertas em um sistema experimental (126) fossem verdadeiras para as doenças inflamatórias crônicas, então uma explicação está disponível para a ruptura cíclica dos tecidos na periodontite.

6.8. A imunolocalização celular das metaloproteinases na doença periodontal

A imunolocalização da colagenase em amostras de biópsia gengival humana de pacientes com periodontite sugeriu que a enzima era freqüentemente associada às células inflamatórias, mas a sua origem celular era incerta (134). Recentemente, estes estudos identificaram células produzindo metaloproteinases e TIMP-1 em amostras de biópsia gengival em pacientes com periodontite (73). Foi demonstrado que colagenase, gelatinase A, estromelinas e seus inibidores TIM-1 específicos podem todos ser imuno localizados nos tecidos gengivais, ambos em paciente com periodontite e em pacientes submetidos a procedimentos de aumento de coroa. Não foi conclusivo se a célula metaloproteinase era um fibroblasto ou uma macrófago, especialmente quando perto do infiltrado inflamatório. Com bases histológicas e morfológicas, concluiu-se que as metaloproteinases podem ser sintetizados por ambas, que as células que secretam metaloproteinases e TIMP-1 eram freqüentemente observadas em sítios que historicamente mostraram sinais de remodelagem do tecido conjuntivo. Pinchback et al. (7), sugerem que muitas enzimas proteolíticas particularmente colagenase, e seus inibidores em periodontite avançada estão associadas às estruturas vasculares. Estes resultados das biópsias de pacientes em estágio avançado sugeriram que uma regulação relacionada com o sistema vascular é um componente integrante da periodontite destrutiva com inflamação crônica.

6.9. Citocinas e a doença periodontal

Muitos dados demonstram a importância crucial dos mediadores inflamatórios, IL-1 e o fator de necrose tumoral alfa na reabsorção do tecido conjuntivo. Assim, a atenção tem sido dada particularmente a estas citocinas nas doenças periodontais. A atividade da IL-1 foi bem

caracterizada nas amostras do fluido crevicular gengival de locais clinicamente inflamados e em locais periféricos da cultura dos monócitos do sangue nos pacientes com periodontite (70). Em estudos mais recentes (72) demonstrou-se um aumento na liberação de IL-1 e fator de necrose tumoral alfa de pacientes com doença periodontal crônica, comparado com os controles. Estes e muitos outros estudos demonstram amplamente que na doença periodontal existe uma liberação estimulada de citocinas especialmente pelas células mononucleares circulantes e, que estas modificam a resposta do hospedeiro.

6.10. Controle das atividades da metaloproteinase através de medicamentos potentes e suas implicações clínicas

Certamente, uma situação sem bactérias resulta numa situação sem inflamação e sem destruição do tecido. Mas já que este ideal não é possível, a atenção voltou-se para objetivos mais realizáveis na utilização de medicamentos na periodontite juntamente com a terapia convencional de raspagem e alisamento radicular. Um caminho explorado é a inibição das metaloproteinases ativas no local de reabsorção.

Existe atualmente uma literatura considerável sobre o uso de análogos de tetraciclina tais como a doxiciclina no tratamento da doença periodontal e de muitas outras condições inflamatórias (104, 119). Doses baixas previniram a ruptura de colágeno e reabsorção de osso alveolar em animais de estudo e promoveram uma redução nas profundidades de bolsa e perda de inserção em recentes estudos clínicos em humanos (24, 104). Originalmente se pensava que a tetraciclina poderia primeiramente agir como inibidor de MMP-8, mas um trabalho recente (113) sugere que a doxiciclina pode agir sobre as metalloproteinases latentes ao unir-se a enzima associada ao Ca^{++} , fazendo com que elas sejam suscetíveis à proteólise e ocorra a perda da atividade enzimática. Outra explicação para o mecanismo da ação das tetraciclinas é que elas

poderiam interferir na indução de citocina das metaloproteinases. Amin et al. (4) mostraram que elas podem inibir a síntese de óxido nítrico: a super produção de óxido nítrico esteve implicada em muitas doenças inflamatórias. A atividade antimicrobiana das tetraciclinas não é necessária para a sua eficácia (104). Outros inibidores de metaloproteinases, particularmente derivados do ácido hidroxâmico, estão agora em testes para inibir a metástase de tumores e outras doenças, mas sua utilidade não está comprovada. Assim, uma área fértil de pesquisa está agora se revelando: informações mostram que um inibidor específico de gelatinase pode prevenir a reabsorção do osso *in vitro* (52). De fato, os inibidores da proteinase são agora muito atrativos para muitas doenças degenerativas e seu possível uso na terapia do câncer foi revista com êxito por DeClerck & Imren (27). Outro meio de ataque foi sugerido pelo trabalho de Arner et al. (5). Estes pesquisadores mostraram, através de um sistema modelo, que uma série isotiazolonas pode inibir a degradação da cartilagem sem diminuir a síntese: eles concluíram, a partir de seus estudos, que o passo de ativação para as metaloproteinases era o alvo provável destas drogas, sem as mesmas terem qualquer atividade contra as enzimas ativas. Assim interferindo com a ativação das metaloproteinases pode oferecer um ponto de controle em muitas doenças. Outras possibilidades ainda não foram totalmente exploradas. Por exemplo, embora fosse demonstrado que os inibidores das prostaglandinas possam reduzir a inflamação, nenhum esforço foi ainda feito para testar os inibidores da fosfolipase, que controla um precursor, o ácido araquidônico. Também as terapias de combinação de drogas anti-inflamatórias não esteróides com inibidores de proteinase, podem ser eficazes (104). Os componentes da citocina dos periodontopatógenos podem ser provavelmente mais amplos do que se pensou até agora. Esta área de pesquisa pode fornecer pistas importantes para os agentes da indução de citocina, de modo que os agentes bloqueadores específicos poderiam ser direcionados localmente para bloquear a expressão da citocina pró-inflamatória no periodonto.

Talvez outra boa área para a investigação seria tentar regular os inibidores da produção da metaloproteinase e restaurar um melhor equilíbrio no tecido. Um possível modo de como isto pode ser feito é encontrado no trabalho de Fang et al (35). Estes pesquisadores descobriram que poderiam estimular uma neoformação do osso *in vivo* por uma técnica de transferência direta dos gens plasmida osteogênicos: uma abordagem similar poderia ser usada por agentes que regulariam os inibidores das metaloproteinases.

7. MECANISMOS DA DESTRUIÇÃO DO OSSO ALVEOLAR NA PERIODONTITE

7.1. Estrutura e remodelagem óssea

O osso é um órgão metabolicamente ativo, composto de fases orgânica e mineral e é primorosamente projetado para o papel de estrutura de suporte. Para cumprir seu objetivo, ele é formado por uma combinação de osso denso, compacto e de osso esponjoso (trabecular) que é reforçado em pontos de stress. A porção mineral do esqueleto contribui com 2/3 do seu peso, o 1/3 restante é matriz orgânica.

Dois principais tipos de células são encontradas no osso. A primeira é o osteoblasto, cuja função é sintetizar os componentes orgânicos da matriz e dirigir os eventos resultantes na mineralização. Uma vez que o osteoblasto é envolvido por uma matriz mineralizada, este é denominado osteócito. Os osteoblastos e os osteócitos também produzem proteases que estão envolvidas com a degradação e a remodelagem da matriz extracelular, resultando em maturação e mineralização. O segundo tipo de célula é o osteoclasto, cuja função é reabsorver as fases orgânica e mineral do osso.

O osso é composto de 2 tipos macroscopicamente diferente de tecido: o osso cortical e o osso esponjoso. Embora o osso esponjoso seja metabolicamente mais ativo, o metabolismo do esqueleto é aproximadamente igual entre os dois tipos de tecido. Cada um é altamente regulado e responde diferentemente aos hormônios, fatores de crescimento e a várias modalidades de tratamento. As mudanças neste equilíbrio, resultam em uma doença caracterizada pelo decréscimo ou acréscimo da massa óssea.

O osso cortical é formado pelo sistema Haversiano, que é encontrado em volta dos vasos sanguíneos centrais e pode espalhar-se dentro do córtex do osso. Especialmente, as células no

sistema Haversiano cobrem uma área de superfície relativamente pequena. Por sua vez, as células no osso esponjoso ocupam uma grande porção da superfície. A absorção pode explicar porque o osso cortical mostra uma atividade metabólica mais baixa do que o osso esponjoso (96).

O osso cortical é confinado pelo periósteo externamente e pelo endósteo internamente. O periósteo é importante durante o crescimento e regeneração dos defeitos periodontais. A modelagem é um processo usado pelo osso, criando um órgão com força compressiva máxima, que é associada à formação e ao crescimento dos ossos na infância e na adolescência (39, 95, 96). O osso esponjoso é constituído de trabéculas. As trabéculas estão interconectadas em um padrão “favo-de-mel”, maximizando as propriedades mecânicas dos osso.

O osso está constantemente sofrendo o processo de remodelagem. Na remodelagem, este é constantemente reabsorvido numa superfície óssea particular seguida por uma fase de neoformação. Em adultos normais, existe um equilíbrio entre a quantidade de osso reabsorvida pelos osteoclastos e a quantidade de osso formada pelos osteoblastos (39).

O presente conceito de remodelagem óssea é baseado na hipótese de que os precursores osteoclásticos tornam-se ativos e se diferenciam em osteoclastos e assim começa o processo de absorção. Esta fase é seguida de uma fase de formação óssea.

Durante o processo de envelhecimento, o osso passa por mudanças na sua estrutura tridimensional que causam um impacto profundo nas suas características físicas. Este processo começa aproximadamente dos 25 aos 30 anos de idade, quando a formação do osso maxilar é completa. A partir desta idade, um declínio constante na massa óssea corporal começa para os homens e mulheres (23, 38, 74). O decréscimo da massa óssea leva ao afinamento do osso cortical devido a perfuração, ou trabeculação da cortical endostal, com a expansão da cavidade medular acompanhada por algum ganho no diâmetro ósseo (108).

As mudanças na massa óssea cortical são dependentes de sexo. Os homens mostram um aumento na atividade reabsortiva dependente da idade, o que leva ao aumento do diâmetro. A

espessura média do osso formada permanece constante com a idade. Assim, uma tendência para um equilíbrio mais negativo entre a reabsorção e a formação é refletida no diâmetro aumentado no canal Haversiano (36). Por sua vez, as mulheres geralmente mostram uma atividade reabsortiva reduzida. Isto está refletido na diminuição no diâmetro com a idade, mas em contraste com os homens, a espessura média do osso decresce com a idade, levando a um equilíbrio negativo pronunciado e um aumento no diâmetro do canal Haversiano (36).

7.2. Fatores reguladores da reabsorção óssea

Nos anos atuais, tornou-se bastante claro que muitos dos eventos celulares envolvidos com a reabsorção óssea são modulados por um grupo de fatores locais que tem efeitos extremamente potentes sobre as células ósseas em sistemas *in vitro* e *in vivo*. Muitos dos efeitos dos fatores locais sobre a reabsorção óssea parecem ser sobrepostos e são similarmente redundantes. Por exemplo, a Interleucina-1, o fator de necrose tumoral alfa e a linfotoxina parecem afetar semelhantemente a reabsorção óssea.

A regulação da citocina é provavelmente mais importante para o osso trabecular do que para o osso cortical porque o osso trabecular está mais próximo da medula, uma rica fonte de citocinas. Muitas das citocinas osteotrópicas tais como IL-1, fator de necrose tumoral, linfotoxina e IL-6, são produtos imunes que estão presentes nas regiões onde a reabsorção óssea está ocorrendo ativamente. Este é o caso durante a progressão da doença periodontal. Entretanto, as células estromais bem como os osteoblastos também produzem estes fatores (43). A produção de citocinas pelos osteoblastos é regulada pela bactéria, lipopolissacarídeos, outras citocinas, e hormônios. Também foi observado que as citocinas e os hormônios podem ter efeitos sinérgicos sobre a reabsorção óssea. Por exemplo, o efeito da IL-1 junto com o hormônio paratireóide sobre

a reabsorção óssea é maior do que os efeitos conjuntos da IL-1 ou do hormônio paratireóide sozinho.

A hipótese de que os fatores locais tem um importante papel de regular a remodelação foi reforçada por dados recentes que implicam diretamente em pelo menos uma destas citocinas na reabsorção normal osteoclástica.

As citocinas parecem ter um papel importante na patologia do osso. As citocinas também foram associadas com a destruição do osso visto em condições inflamatórias crônicas, tais como artrite reumatóide e a doença periodontal. Durante estas doenças, o aumento observado nas citocinas mostrou um aumento na destruição óssea localizada. A atividade da célula óssea, bem como a regulação do processo de remodelação, é também controlado pelos fatores sistêmicos circulantes. O efeito destes hormônios é duplo. Hormônios tais como o da tireóide, e a calcitonina agem sobre as células diretamente. Algumas vezes, os hormônios e os fatores locais agem sinergicamente.

7.2.1. Interleucina-1 (IL-1)

A IL-1 é uma citocina de reabsorção óssea poderosa e potente (44). Descobriu-se que a IL-1 alfa e a IL-1 beta são igualmente potentes ao estimular a reabsorção óssea e provavelmente exerçam seus efeitos sobre as células de reabsorção óssea de diferentes maneiras. Elas estimulam a proliferação de células precursoras, mas podem também agir indiretamente sobre as células maduras para estimular a reabsorção óssea (122). Os efeitos da IL-1 provavelmente ocorram por dois mecanismos. Um mecanismo é estimular a produção e liberação de prostaglandina E₂, por conseguinte estimular a reabsorção óssea (1, 67). O segundo mecanismo envolve a ação direta da IL-1 sobre o osteoclasto independente da síntese da prostaglandina (19, 83).

A IL-1 tem efeitos complexos e aparentemente paradoxais sobre a formação óssea. A contínua presença de IL-1 inibe a formação óssea *in vivo* e *in vitro* (17, 112). A IL-1 parece estimular a proliferação das células nos estágios iniciais de diferenciação na família dos osteoblastos mas inibe as funções características do estado amplamente diferenciado. Por sua vez, a exposição transitória a IL-1 estimula a formação óssea pelos osteoblastos.

7.2.2. Interleucina-6 (IL-6)

Em alguns modelos experimentais, IL-6 parece não ter efeitos sobre a reabsorção óssea, mas em outras (68) estimula a reabsorção. IL-6 é também responsável pela formação de células com um fenótipo osteoclástico (11). Os osteoblastos também podem produzir IL-6 (77, 97). A quantidade produzida é aumentada em resposta às citocinas e aos hormônios (9).

7.2.3. Fator de necrose tumoral alfa e linfotóxina

A linfotóxina e o fator de necrose tumoral alfa são citocinas multifuncionais produzidas pelos linfócitos ativados. Eles tem efeitos semelhantes sobre as células ósseas e compartilham do mesmo receptor. Seu maior efeito sobre o osso é estimular a reabsorção osteoclástica (10). Foi sugerido que parte do efeito do fator de necrose tumoral alfa é mediado pela prostaglandina E2 bem como a IL-6.

7.3. Prostaglandinas e outros metabólitos do ácido araquidônico

Um número de metabólitos do ácido araquidônico agem como moduladores da função da célula óssea. Estes fatores são produzidos pelas células ósseas, imunes e da medula. As prostaglandinas das séries E foram alguns dos primeiros descritos e bem testados estimuladores da reabsorção óssea. Prostaglandinas das séries E são de ação lenta mas poderosos mediadores da reabsorção óssea e afetam os osteoclastos maduros ativos bem como os osteoclastos precursores. O efeito das prostaglandinas das séries E é local e media o efeito de outros fatores, tais como o fator de crescimento epidermal e o fator de crescimento (60, 118). Prostaglandinas das séries E são produzidos pelos osteoblastos (107) e tem efeitos não só sobre a reabsorção óssea mas também sobre a formação óssea (3, 123). *In vitro*, foi descoberto que altas doses de prostaglandinas das séries E são inibitórias considerando que baixas doses estimulam a formação óssea. Entretanto, *in vivo*, parece que o efeito da prostaglandinas da série E está claramente associado com um aumento na formação óssea periostal (56).

7.4. Esteróides sexuais

Os andrógenos provavelmente afetam a reabsorção osteoclástica do osso de uma modo similar ao do estrógeno (9, 76, 87, 88). Homens castrados ou hipogonodais tem massa óssea decrescente associada à reabsorção óssea crescente (37, 38, 116).

7.5. Fatores reguladores da formação óssea

A formação de um novo osso tem 2 etapas principais: a produção de uma nova matriz orgânica pelos osteoblastos e a mineralização desta matriz. Os agentes que regulam a formação óssea agem sobre os osteoblastos para aumentar ou diminuir a reprodução das células na família osteoblástica ou para modificar a função diferenciada do osteoblasto. Como foi descrito acima, a formação óssea é controlada pelos hormônios sistêmicos e fatores locais. Na maior parte, os reguladores locais da formação óssea são os fatores de crescimento que agem diretamente sobre as células da família osteoblástica. Estes fatores locais podem afetar suas células de origem ou células diferentes (18, 78, 129).

Os fatores de crescimento que regulam a formação óssea tem algumas características comuns: 1) eles são polipeptídeos ; 2) exercem sua atividade ao juntar-se aos receptores específicos sobre a superfície da célula; 3) agem, antes de tudo, localmente; 4) são produtos naturais das células; e 5) são multifuncionais pois podem estimular uma ampla variedade de atividades celulares. Em casos como da regeneração periodontal, o efeito combinado de muitos fatores de crescimento está envolvido (137).

7.5.1. Proteínas Morfogenéticas do osso

Durante a embriogênese, a neoformação óssea ocorre através de uma série complexa de interações celulares. A maioria dos ossos do corpo inicialmente passam por uma fase de formação e calcificação da cartilagem e depois é substituído pelo osso, num processo chamado de formação óssea endocondral. O interessante é que o reparo ósseo nos adultos é muito semelhante a este processo. Durante o reparo ósseo, muitos fatores de crescimento são liberados e afetam o

processo de cura. Entre estes existe uma família de fatores com atividade osteoindutiva, as proteínas morfogenéticas do osso (124). Esta família de proteínas pode promover a formação óssea quando implantada no tecido, que não formaria osso.

A implantação da proteína morfogenética do osso em locais ectópicos, bem como no osso, induz a produção através do caminho endocondral (100, 125). Neste caminho, a proteína morfogenética do osso induz a diferenciação condrocitária e a mineralização da matriz. Além disso, a proteína morfogenética afeta diretamente os osteoblastos ao estimular a diferenciação das células precursoras. Posteriormente, mostrou-se que estimula a produção de colágeno por osteoblastos maduros.

7.6. Mudanças ultra-estruturais na doença periodontal

Os estudos ultra-estruturais do tecido periodontal na saúde e na doença contribuíram para um entendimento mais completo das reações e interações do tecido que ocorrem durante a doença periodontal. Posteriormente, eles ajudaram a esclarecer muitos dos estudos bioquímicos e imulógicos sobre esta doença. Por razões didáticas, é conveniente descrever as mudanças ultra estruturais e como elas aparecem gradualmente durante os estágios iniciais inflamatórios e no estabelecimento da doença periodontal. A primeira descrição compreensiva deste processo foi iniciada por Page & Schroeder (94).

Quando a gengivite subclínica começa a se desenvolver, uma resposta inflamatória aguda ocorre no tecido conjuntivo na base do sulco gengival dentro de 2 a 4 dias do acúmulo de placa. A maioria das populações celulares recrutadas para este local são predominantemente de neutrófilos, embora os linfócitos e as células mononucleares também estejam presentes. Estas células tem a habilidade de produzir fatores locais que afetam o processo de remodelagem do

osso. Depois de 4 a 7 dias, as células inflamatórias infiltram-se no tecido conjuntivo e até 70% do colágeno pode ser perdido. Além disso, os fibroblastos mostram alterações citotóxicas (98, 106).

Na gengivite crônica, as células inflamatórias acumulam-se e o tecido conjuntivo continua a ser destruído, entretanto, as mudanças ultra-estruturais ainda não são vistas no osso (66, 94, 138). Na periodontite, a infiltração celular e a degradação de colágeno progride apicalmente. Os osteoblastos no osso alveolar desaparecem. Um grande número de osteoclastos reabsorvem a crista do osso, resultando na perda de ancoragem das fibras principais do periodonto. A superfície do cimento é o último tecido a ser reabsorvido. Estes fatores ocorrem 0,5 a 1mm à base do epitélio da bolsa periodontal (30, 109, 110).

As razões para a resistência relativa do cimento para a reabsorção, comparada com o tecido basal, tem sido assunto de muita especulação. O cimento remodela-se muito devagar comparado com o osso e uma ativação deste processo é muito mais difícil. A camada de superfície do cimento contém mais fluoreto do que o tecido ósseo (136), resultando numa grande resistência à dissolução em ácidos produzidos pelo osteoclasto. Mais importante, não existem vasos sanguíneos no cimento e menos vascularização do tecido conjuntivo perto da superfície da raiz.

Na periodontite adulta, fatores produzidos por bactérias, tais como os lipopolissacarídeos, juntos com os produzidos durante o processo inflamatório, afetam a remodelagem do osso.

7.7. Fatores envolvidos na destruição durante a doença periodontal

As doenças periodontais são em grupo de doenças inflamatórias causadas por bactérias e seus produtos (32, 41, 114). A resposta do hospedeiro à bactéria e seus produtos é mediada pela produção e liberação de fatores locais das células inflamatórias, especialmente linfócitos e

monócitos, bem como as células de origem mesenquimal, tais como os osteoblastos e fibroblastos. Fatores locais produzidos durante a doença periodontal podem ser encontrados no fluido crevicular gengival e no próprio tecido gengival. Por conseguinte, a maioria das pesquisas busca medir os fatores locais nestes lugares e correlacionar seus níveis à doença.

Evidências dão suporte ao conceito que a prostaglandina E2 produzida pelo hospedeiro, media muito a destruição do tecido que ocorre na doença periodontal. Em 1974, Goodson et al. (42) relataram que as biópsias gengivais de pacientes com gengivite continham níveis de prostaglandina E2 10 vezes mais altos do que os encontrados em pacientes saudáveis (42). Estas observações foram confirmadas em estudos posteriores (2, 53). Além disso, em pacientes adultos com periodontite, um aumento significativo em níveis de prostaglandina E2 foi encontrado no fluido crevicular gengival comparado com pacientes sadios. Uma associação entre os níveis crescentes de prostaglandina E2 no fluido crevicular gengival e uma severidade e agressividade crescentes da doença também foi notada (85). Os resultados levaram à conclusão de que o nível de prostaglandina no fluido crevicular gengival pode servir como um bom indicador do status da doença periodontal que está acontecendo. Uma correlação direta entre o nível de prostaglandina E2 e a razão da perda de inserção durante a doença periodontal também foi encontrada (85, 86).

Muita da prostaglandina E2 presente no tecido doente é secretada pelas células inflamatórias. Além de uma estimulação direta das células inflamatórias pelos lipopolissacarídeos, citocinas produzidas por estas células pode fazer com que as células mesenquimais e os osteoclastos liberem prostaglandina E2. Por exemplo, sob a influência de IL-1, os fibroblastos gengivais secretam prostaglandina E2 em cultura (25, 82, 102).

Uma prova definitiva para o papel da prostaglandina E2 na doença periodontal progressiva foi descoberta quando mostrou-se que esta pode ser tratada ao inibir-se a produção. O tratamento inclui drogas antiinflamatórias não-esteróides que foram amplamente utilizadas em tentativas de controlar a doença periodontal.

Estudos que examinaram o uso destas drogas contra a doença em animais foram bem sucedidos (54, 58, 131, 135). Aproximadamente neste mesmo tempo, estudos paralelos demonstraram que pacientes que estavam tomando este medicamento para a artrite tiveram reduzida a perda de inserção e significativamente menos reabsorção óssea do que pacientes sob controle (128). Um estudo de 3 anos em humanos mostrou resultados similares de osso reduzido e de perda de inserção como aquela encontrada em modelos animais (132, 133).

Posteriormente, embora a reabsorção óssea seja reduzida pela terapia com esta droga antiinflamatória, de maneira rara mostrou-se ser completamente atenuada. Isto tem relação com a evidência que implica outros mediadores bioquímicos tais como IL-1 e fator de necrose tumoral alfa na doença periodontal e tais mediadores muitas vezes dependem da presença de pequenas quantidades de prostaglandina E2 para aumentar sua atividade de reabsorção óssea.

8. AVANÇOS NA PATOGÊNESE DA PERIODONTITE: DESENVOLVIMENTOS, IMPLICAÇÕES CLÍNICAS E DIREÇÕES FUTURAS

8.1. Abordagem Teórica

O paradigma da patogênese da periodontite é a mudança. Periodontite é uma família de doenças relacionadas que diferem na etiologia, história natural, progressão e reação à terapia mas tem uma cadeia comum de eventos subjacentes. As características histopatológicas e ultraestruturais e os caminhos para a destruição dos tecidos bem como a cura e a regeneração são muito similares, se não idênticas, para todas as formas de periodontite. Os mesmos mecanismos patológicos básicos servem como fundamento para todas as formas de periodontite induzidas bacterianamente. Estes eventos combinados são influenciados por modificadores da doença, tanto genético ou ambiental quanto adquirido, que podem diferir de um estágio e forma de doença para outra. A figura clínica observada é um resultado da reciprocidade complexa dos eventos e seus modificadores e do desafio microbiano. A severidade e a taxa de progressão da doença reagem para influenciar a natureza e a magnitude do desafio microbiano por, por exemplo, influenciar o pH e a disponibilidade de oxigênio e vários nutrientes na bolsa periodontal.

Várias formas de periodontite com manifestações, histórias naturais, e reações ao tratamento resultam de diferenças na etiologia microbiana entre grupos e indivíduos e/ou fatores que modificam os mecanismos de reação externa ou alteram a suscetibilidade à imunidade. A última inclui mas não está limitada a condições sistêmicas como a diabetes melitus e defesas externas comprometidas, fatores hereditários e fatores ambientais como o fumo e o stress (46, 91, 105). Estes fatores modificadores explicam as diferenças observadas e fazem isto interferindo com regulação, ativação ou inibição de vários componentes dos mecanismos de reação externa,

homeostase e reparo do tecido. Uma parte essencial desta hipótese é que os componentes da reação externa que normalmente fornecem proteção são os mesmos que realizam a destruição.

As influências modificadoras podem afetar a época do ataque da doença, os padrões de ossos observados e destruição do tecido, as taxas de progressão da doença, a reação a vários tipos de terapia e a severidade e frequência da reincidência da doença. Estas influências modificadoras, tal como fatores hereditários, podem perdurar por toda vida ou podem estar presentes ou ausentes ou variar em magnitude de efeito em diferentes épocas. Esta abordagem teórica à patogênese da periodontite permite uma melhor compreensão da razão pela qual os indivíduos variam enormemente em suscetibilidade à doença, manifestações clínicas, taxa de progressão e resposta terapêutica. De muito maior importância, ela aponta o caminho para abordagens novas e inovadoras à prevenção, diagnóstico, tratamento e prognóstico. Ainda, ela aponta para um controle eventual desta família de doenças em muitas populações humanas. Por exemplo, um polimorfismo da família do gene Interleucina-1 (IL-1) foi identificado que, quando positivo, eleva a probabilidade de se ter periodontite severa mais tarde em sua vida e por muitas vezes (59). Abordagens para controlar e prevenir com sucesso estas doenças em indivíduos e em populações estão agora no horizonte. A conduta diária está mudando, de se identificar a presença de doença e severidade e medidas de aplicação para a detenção de progressão para um novo paradigma, consistindo em regenerar tecidos destruídos nos indivíduos já afetados, prevenir doença e manter a saúde em indivíduos saudáveis. A prevenção é baseada na determinação de riscos que elevam a suscetibilidade à doença, progressão e severidade afetando eventos compartilhados comuns na patogênese e aplicação de medidas que reduzam estes riscos.

8.2. Desafio Microbiano

A periodontite é uma doença infecciosa, e a principal patogênese foi identificada. As bactérias são essenciais mas insuficientes para causar a doença. Fatores externos tal como a hereditariedade e fatores ambientais tal como o fumo são igualmente importantes como determinantes da ocorrência da doença e da severidade do resultado. A interação destes fatores é bem demonstrada por recentes pesquisas que mostram a complexidade das interações em doenças multifatoriais e incluem papéis para bactérias específicas, fatores de risco e fatores modificadores ambientais e genéticos. Trabalho recente mostrou que a periodontite juvenil localizada, mas não generalizada, elevou níveis de imunoglobulina G2 (IgG2), que são geneticamente controlados (120). Os dados sugerem que uma reação de imunidade elevada determinada geneticamente à *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ajuda a limitar a doença a uma expressão clínica localizada. Tem sido mostrado que o fumo compromete indivíduos com doença generalizada, baixando a IgG2. Curiosamente, o fumo não reduziu o IgG2 no grupo de periodontite juvenil localizada. O desafio específico da bactéria *A. a.*, por essa razão, produz padrões de doença clínica muito diferentes que parecem ser determinados por combinações de fatores genéticos e fumo.

A maioria dos casos de periodontite são causados por um número menor de espécies de bactérias. Embora a flora subgengival possa abrigar centenas de espécies, cerótipos e biotipos, pesquisadores concordam que, exceto por periodontite necrosante aguda, *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* e *A. actinomycetemcomitans* causam a maioria dos casos de periodontite (21). Este é um passo adiante por diversas razões. Permite que testes sejam desenvolvidos para detectar a presença de bactérias periodontopáticas específicas e fornece um embasamento prático para monitoramento de pacientes e assuntos comuns através do tempo. Como a capacidade para se identificar precocemente os indivíduos que são altamente suscetíveis

para o desenvolvimento de periodontite severa mais tarde, durante a vida está se desenvolvendo , monitorar a flora para estas patogêneses se torna duplamente importante. Igualmente importante, o fato de que apenas poucas espécies predominantes são envolvidas na causa da periodontite humana se torna mais provável que uma vacina pode ser desenvolvida para prevenção em indivíduos , famílias e populações de alto risco, e para possível tratamento de casos recalcitrantes.

8.3. A placa microbiana subgingival é um biofilme

Costerton et al. (22), definiram biofilme como "populações bacterianas cercadas de matrizes aderentes umas as outras e/ou superfícies ou interfaces". A placa microbiana subgingival adere firmemente à superfície da raiz do dente e manifesta todas as características esperadas dos biofilmes (26). Além disso, em contraste com outros biofilmes , bactérias não anexas estão localizadas entre o biofilme e o tecido gengival. A recente noção de que a placa microbiana subgingival é um biofilme e o conjunto de informações em rápido crescimento sobre a natureza dos biofilmes em geral é um dos mais importantes avanços conceituais na microbiologia periodontal em muitos anos. As bactérias em biofilmes podem produzir um grande número de proteínas, há evidência de que elas trocam informação, e constroem estruturas complexas que contém um sistema circulatório primitivo e microambientes que variam grandemente em ph, disponibilidade de oxigênio e disponibilidade de nutrientes (22). Quase nada é sabido sobre o comportamento dos patógenos periodontais *P.gingivalis*, *B. forsythus* e *A. actinomycetemcomitans* nas estruturas de biofilmes. A elucidação da estrutura e natureza dos biofilmes subgingivais e o comportamento dos patógenos periodontais residentes neles fornece uma área fértil e estimulante para pesquisas futuras.

O fato de que a placa seja um biofilme pode esclarecer porque algumas espécies bacterianas requerem a presença de uma ou mais espécies para sobrevivência, ao passo que em outros casos, a presença de uma dada espécie impossibilita a presença de outra. Evidências indicam que colônias discretas de espécies específicas podem estar localizadas em relação íntima com colônias de outra espécies e que metabólitos e produtos podem ser mutuamente trocados.

A placa microbiana é notoriamente resistente aos mecanismos de defesa externa normais. O fluido gengival, que contém complemento, anticorpos e todos os outros sistemas presentes no sangue para prevenção e controle de infecção, corre pela bolsa periodontal, banhando continuamente o biofilme. O complemento é conhecido como sendo ativado, e milhões de leucócitos ativos e viáveis, especialmente os neutrófilos migram continuamente para as bolsas periodontais e entram em contato com a placa subgengival (29). Todavia, a bactéria sobrevive, elas se espalham lateralmente e verticalmente ao longo da superfície da raiz, causando a destruição do tecido e o aprofundamento da bolsa. Tal comportamento é compreendido em termos da conhecida natureza dos biofilmes nos quais as bactérias são protegidas de defesas externas. Como com outros biofilmes, a placa microbiana subgengival é extraordinariamente persistente e difícil de eliminar. Porque colônias bacterianas individuais são protegidas umas pelas outras e por material extracelular nos quais elas se encaixam, são geralmente resistentes aos efeitos de antibióticos e outros agentes antimicrobianos tanto os aplicados localmente quanto os administrados sistemicamente. Provavelmente seja por isso que o alojamento em bolsas de recursos periodontais que despejam enormes concentrações de antibióticos que eram supostos a esterilizar virtualmente a bolsa quase sempre fornecem resultados desapontadores. Foi bem estabelecido que bactérias crescendo em biofilmes são resistentes a níveis de agentes antibacterianos diversas vezes maior do que aquelas que são inibitórias em testes de laboratório. Remoção e ruptura física são meios efetivos de lidar com os biofilmes. É por isso que a raspagem e alisamento radicular é uma tratamento efetivo notável para a periodontite. Tem sido um

componente central e essencial da terapia periodontal desde muito tempo e permanece assim até hoje. Sua efetividade relacionada a outras formas de terapia é devido mais certamente ao fato de que rompe e remove fisicamente o biofilme microbiano. A raspagem e aplainamento radicular é provável que permaneça como o componente central da terapia periodontal para o futuro previsível.

8.4. A periodontite é intensamente associada com as principais doenças sistêmicas

Há no momento forte evidência de que a periodontite aumenta o risco para várias doenças sistêmicas, incluindo a arteroesclerose, doença coronária, infarto e crianças com baixo peso ao nascer (8, 84). Biofilmes subgengivais nas raízes do dente são prováveis de ser um importante componente deste elevado risco. Como notado acima, estes biofilmes são recalcitrantes, eles reincidem após tratamento e eles contêm numerosas bactérias gram-negativas que continuamente lançam veículos ricos em lipopolisacarídeos. Um único movimento de uma cureta na bolsa periodontal pode conter até 10 de bactéria cultivada. A carga de biofilme em um paciente com periodontite generalizada severa é grande. Se for considerada a presença de 28 dentes e considerar as raízes dos dentes sendo circulares com um diâmetro médio de 10mm e uma média de 5mm de biofilme em cada uma, a área total de biofilme na boca seria de aproximadamente 72 cm², ou uma área de aproximadamente o tamanho do dorso da mão de um humano. Esta é uma enorme carga de bactérias gram-negativas. Lipopolisacarídeos e bactérias vivas dos biofilmes tem pronto acesso aos tecidos conexos e na circulação através do epitélio da bolsa. A bacteremia ocorre durante o tratamento pela raspagem e alisamento da radicular (geralmente realizada a cada 3 ou 4 meses para controlar a doença) e mesmo durante a escovação e a mastigação (8). Os biofilmes subgengivais podem fornecer uma fonte principal e contínua de circulação de

lipopolisacarídeos e mesmo de bactérias gram-negativas vivas, que afetam diretamente o endotélio vascular e explicam em parte a elevada suscetibilidade a várias doenças sistêmicas e a piora de outras doenças, tal como a diabetes mellitus.

8.5. Transmissão bacteriana

O desenvolvimento e aplicação das novas técnicas baseadas no DNA resolveram também outros assuntos:

-as bactérias periodontopáticas existem como membros da flora oral normal em números muito pequenos que podem crescer excessivamente em indivíduos suscetíveis à doença?

-elas são transmitidas de um indivíduo para outro? Diversos estudos mostraram que a transmissão pode ocorrer e ocorre entre indivíduos vivendo em contato íntimo, tais como casais ou parentes muito próximos (26). Os dados indicam que quando uma espécie patogênica está presente, todos os membros de uma dada família que estão infectados carregam o mesmo tipo clonal, e geralmente apenas um tipo clonal está presente numa dada bolsa, paciente, sujeito ou família. O último ponto, contudo, não está muito bem documentado. Nada é sabido sobre a predominância de um tipo clonal sobre outro ou sobre exigências de crescimento diferentes para vários tipos clonais.

Estas observações tem implicações importantes para a prevenção e tratamento da doença periodontal. Por exemplo, quando um membro da família tem periodontite, a terapia periodontal instituída no indivíduo para estancar a progressão da doença e eliminar a bactéria causadora é suficiente? Todas as famílias devem ser testadas para o patógeno ou patógenos? Devem todos os membros da família que são infectados ser tratados com o propósito de eliminar o patógeno da família inteira mesmo que os sinais da periodontite estejam presentes ou não? Em outras palavras, o risco de 'reinfecção' e doença ativa recorrente são elevados quando outros membros

da família periodontalmente normais carregam o patógeno? Uma abordagem deste tipo pode ser geneticamente a continuação ou reincidência da doença, tal como aqueles com qualquer uma das várias anormalidades neutrofilicas. Estas questões críticas permanecem sem resposta.

8.6. O único papel da *P. gingivalis*

Numerosos fatores de virulência potencial manifestados pelas bactérias periodontopáticas tem sido identificados e estudados (55). Entre eles estão as toxinas que são letais para os leucócitos, lipopolisacarídeos que podem ativar e perpetuar a destruição dos tecidos, produtos que afetam as reações imunológicas e o crescimento das células, e proteases que podem destruir o tecido e degradar componentes importantes da reação externa, tal como um anticorpo específico e produtos de ativação de complemento. Nenhum destes fatores, no entanto, parece explicar os aspectos importantes da patogênese: por exemplo, o rápido supercrescimento de tais espécies patogênicas como a *P. gingivalis*.

Um mecanismo totalmente novo que pode explicar os eventos observados foi descrito recentemente. O lipopolisacarídeo da *Escherichia coli* e a maioria das espécies patogênicas gram-negativas ativam a expressão do E-selectin pelas células endoteliais vasculares, e isto engatilha a ligação dos leucócitos, especialmente neutrófilos e sua emigração dos vasos para o local da infecção. Este recente evento engatilha uma reação inflamatória aguda e a célula inflamatória se infiltra, o que sob condições favoráveis, pode eliminar a infecção. Darveau et al. (26), demonstram que lipopolisacarídeo do *P. gingivalis* não tem a capacidade de ativar a expressão do E-selectin pelas células endoteliais, mais adiante, ele bloqueia a expressão do E-selectin por outra bactéria gram-negativa e seus lipopolisacarídeos.

Estas observações sugerem um papel pouco comum para o *P. gingivalis* em estabelecer biofilmes subgingivais e na colonização das bactérias e supercrescimento de espécies específicas. Fechando o passo inicial no processo inflamatório agudo, o *P. gingivalis* pode não apenas permitir seu próprio crescimento por causa da ausência de componentes de defesa externa normal mas também tornar possível o estabelecimento e crescimento de outras espécies encontradas nos biofilmes subgingivais. Estas propriedades podem estar entre as razões pelas quais o *P. gingivalis* é tão frequentemente associado à destruição tecidual.

8.7. Interações parasita-hospedeiro estão em equilíbrio biológico

Presume-se que o caráter combativo da interação parasita-hospedeiro possa explicar a natureza intermitente da progressão da doença periodontal . O prejudicial desprendimento do lipopolisacarídeo do biofilme microbiano engatilha a liberação externa de mediadores inflamatórios, que destroem os tecidos conjuntivos. Uma vez que o aparato de ligamento perdido limitou a habilidade de se regenerar espontaneamente, o processo destrutivo parece unidirecional, com um desafio microbiano maior, resultando em mais doença. Em algum ponto, o processo destrutivo geralmente perde impulso e decresce, presumivelmente devido a defesas externas renovadas: e desse modo define a natureza intermitente do processo da doença. Uma das mais simples explicações em potencial para a perda do impulso da doença pode ser a perda da própria inserção, que temporariamente remove o tecido do biofilme bacteriano. Seria esperado que esta mudança em relações físicas reduzisse a concentração de produtos bacterianos no tecido, talvez suficientemente para permitir ao hospedeiro sua recomposição. Uma vez que a progressão da doença é aparentemente cessada na lesão, um variável período de inatividade ocorre, somente para ser interrompido algum tempo mais tarde por outro episódio de atividade da doença. Este

processo tem sido comparado a um balanço ou um vai-e-vem , com períodos de virulência microbiana hostil dando um superpoder às defesas externas e resultando na destruição clínica do tecido. A analogia é completa por uma estratégia externa renovada de anticorpos defensivos para limitar o dano microbiano, virando o balanço temporariamente a favor do hospedeiro.

Estes modelos de progressão de doença estão baseados em observações clínicas e não são aceitos universalmente. De fato, na última década , dados tem sido relatados usando provas assistidas por computador e radiografia digital, que baixam o limiar no qual a mudança clínica pode ser detectada.

Interações bactéria-hospedeiro são interdependentes. O biofilme, mantém uma interação parasita-hospedeiro simbiótica. Nem todas as pessoas e nem todas as bolsas são igualmente acomodadas como hospedeiros; por exemplo, locais profundos fornecem um melhor ambiente de crescimento do que locais rasos menos inflamados. Esta interação complexa não pode ser facilmente explicada ou modelada como um processo unidirecional, mesmo usando múltiplas variáveis , tais como sinais, níveis de carga microbiana ou outros.

8.8. Algumas pessoas desenvolvem gengivite e outras periodontite

Por diversas décadas periodontistas consideraram a questão central de como a gengivite progride até a periodontite na crença de que a resposta forneceria dicas de ajudar na prevenção da mesma.

Atual evidência sugere que, enquanto a gengivite provavelmente representa o estágio inicial na história natural da periodontite, ela pode também existir como uma entidade clínica estável e independente. A composição microbiana do biofilme associado com ambas condições parece ser bem similar. Na verdade, os microrganismos associados à gengivite e à periodontite

são comumente encontrados até mesmo em adolescentes. E já que a patogênese periodontal pode ser transmitida, pareceria que a exposição à maioria dos patógenos periodontais na vida de uma pessoa seria um evento um tanto onipresente, mas o biofilme deve ser suficientemente maduro para estes microrganismos "de desenvolvimento tardio" se tornarem residentes.

Agora é reconhecido que doenças multifatoriais, tal como a periodontite, geralmente tem fatores iniciais, fatores que permitem ou bloqueiam a iniciação da doença e fatores que modificam a expressão clínica uma vez que a doença já se iniciou. O processo de iniciação da doença está sendo reexaminado com o reconhecimento da natureza multifatorial da periodontite. Os patógenos proeminentes, tal como o *P.gingivalis* e o *B. forsythus*, em formas adultas de periodontite irão previsivelmente emergir na placa subgingival como a consequência natural da maturação não perturbada do biofilme dental em indivíduos expostos à rotina social e alterações na família.

O acúmulo de placa microbiana em crianças e adolescentes leva a uma resposta inflamatória referente à gengivite, a gravidade dela varia entre os indivíduos. Gengivite experimental em adultos jovens, que é causada pelo supercrescimento de espécies gram-positivas durante as primeiras 2-3 semanas seguintes à interrupção da higiene oral, presente clinicamente como vermelhidão e edema que começa em poucas áreas marginais e interpapilares e geralmente se espalham em mais locais, ao passo que lentamente se torna mais grave em locais envolvidos. Durante este período de tempo o infiltrado de neutrófilos, a proliferação epitelial, e a proliferação capilar subepitelial dominam histologicamente a lesão. Bioquimicamente, a barragem da migração de neutrófilos para o sulco é marcada por uma elevação nos níveis de leucotrienos B4 no fluido crevicular da gengiva, um produto de neutrófilos degranulados (48). Isto reflete os neutrófilos ativamente se engajando às bactérias no sulco, facilitando o espaço. Isso representa o estágio inicial da lesão que pode ser caracterizada pela ativação de neutrófilos e queratinócitos facilitando o recrutamento de neutrófilos e o espaço bacteriano. Queratinócito IL-8 é um potente sinal para

a expressão de moléculas de adesão intracelular e recrutamento de neutrófilos. O neutrófilo leucotrieno B4 e o complemento C5a são vasoativos e suficientes para a inflamação marginal com pouca destruição dos tecidos conjuntivos mais profundos.

À medida que a biota muda e se torna mais gram-negativa por 3-4 semanas, o sangramento na sonda começa a crescer rapidamente concomitante com a elevação de prostaglandina E2 no fluido crevicular gengival, um marcador da penetração de lipopolisacarídeos e ativação de monócitos (48). Ainda, o engatilhador bioquímico de prostaglandina E2 também sugere que a capacidade de espaço dos neutrófilos tem sido excedida e que o lipopolisacarídeo penetrou nos tecidos, resultando numa liberação de prostaglandina E2, IL-1 e provavelmente fator de necrose tumoral alfa. A prostaglandina E2 aumenta a potência quimiotática da IL-8 (20), servindo para exponencialmente aumentar o recrutamento de neutrófilos. Em contraste com as enzimas neutrofilicas que são predominantemente antimicrobianas em natureza (lisozima, lactoferrina, e B-glucoronidase), estes mediadores (prostaglandina E2 e fator de necrose tumoral alfa) tem como alvo células hospedeiras para iniciar o catabolismo do tecido.

O que permite que lipopolisacarídeos suficientes entrem no tecido e ativem os monócitos? Uma possibilidade é que o crescimento bacteriano traria altos níveis de lipopolisacarídeo em contato com a bolsa gengival, resultando na formação de mais epitélio da bolsa, que permitiria mais lipopolisacarídeos de entrar nos tecidos. Isto supõe, no entanto, que inúmeros e suficientes neutrófilos não estão mais disponíveis para separar a bactéria do epitélio. Outra possibilidade é que a urgência de organismos tal como o *P. gingivalis* faz com que fatores bacterianos entrem no tecido e interfiram da dinâmica do fluxo de neutrófilos no sulco (26). Isto reduziria o número de neutrófilos no sulco e mudaria o relativo equilíbrio entre os neutrófilos e as bactérias, permitindo mais expansão bacteriana e mais lipopolisacarídeos de entrar no tecido.

Outros fatores que alteram a função dos neutrófilos no sulco provavelmente permitem também uma rápida alteração bacteriana que oprime os neutrófilos. Estes fatores parecem incluir defeitos intrínsecos dos neutrófilos, modificadores de neutrófilos adquiridos tal como o fumo e fatores que alteram a atividade neutrófilo-anticorpo tal como variações genéticas em receptores (46).

Os crescentes níveis de prostaglandina E₂, IL-1 e fator de necrose tumoral alfa representam o começo de um novo estágio na patogênese que envolve a reação dos monócitos e células do plasma. Em crianças este estágio geralmente não ocorre, a menos que a função dos neutrófilos seja defectiva, tal como visto na síndrome 1 de deficiência de adesão de leucócitos. Também sugere que crianças não respondem ao desafio de lipopolisacarídeos com monócitos e infiltrado de célula do plasma como uma reação inflamatória ao desafio local da mesma maneira que os adultos. A razão pode ser que, em geral, a reação celular ao lipopolisacarídeo com uma resultante liberação de mediador inflamatório é muito fraca em crianças e aumenta com a idade. Isto é em parte devido ao importante papel que o lipopolisacarídeo exerce na maturação do sistema imunológico em crianças, especialmente em processos dirigidos pelo timo. Ainda, animais livres de germes falham no desenvolvimento de imunidade de células normais T, se o lipopolisacarídeo não estiver presente, ilustrando o papel-chave do lipopolisacarídeo como um sinal co-evolucionário para a maturação do sistema imunológico (6). Esta ausência de reação em crianças pode em parte explicar a aparente resistência que as crianças tem para a periodontite.

Em adultos jovens com gengivite experimental, nem todos os pacientes se comportam da mesma maneira bioquímica e clinicamente. A maturação do biofilme em 4 semanas e a aquisição de anaeróbios gram-negativos apresentam um desafio que escapa do espaço neutrofilico em alguns pacientes e resulta na penetração dos lipopolisacarídeo. Isto é sugerido por dados mostrando que alguns pacientes de gengivite experimental tem níveis de prostaglandina em 4 semanas idênticos àqueles de periodontite não tratada em adultos. Outros pacientes tem baixos

níveis de prostaglandina E2 que não aumentaram da sua linha básica. A questão central então é se ambas diferentes reações representam a gengivite. Ao invés disso, parece representar uma reação em escala temporal à carga de lipopolisacarídeo que está ausente em alguns pacientes. A magnitude da gravidade clínica estaria diretamente relacionada à magnitude da reação inflamatória (isto é, o montante de prostaglandina E2, IL-1 e fator de necrose tumoral alfa). Se a gengivite representa uma lesão de neutrófilos, então sua elevação em prostaglandina E2 não representa gengivite experimental mas periodontite experimental que começa com uma inflamação gengival, uma reação de neutrófilos não protetores e um desencadeamento rápido de lipopolisacarídeo dos mediadores inflamatórios da periodontite.

Em pacientes não suscetíveis, uma reação protetora pelos neutrófilos e anticorpos limita a extensão e a gravidade da perda de inserção. Em pacientes suscetíveis, o espaço de neutrófilos é menos protetor e a extensão e gravidade da doença são governadas pela magnitude da reação inflamatória externa ao desafio microbiano, especialmente a reação ao lipopolisacarídeo. A magnitude da reação inflamatória é dirigida pelos antígenos microbianos e controlada pelas células T. A reação crescente ou decrescente das células T regulam o componente inflamatório, a diferenciação das células do plasma e a produção de anticorpos. O anticorpo é crítico para o aumento de espaço dos neutrófilos, que reduz o lipopolisacarídeo e o desafio antigênico.

Estudos da história natural de novos episódios de perda de inserção periodontal mostram que pacientes não suscetíveis com gengivite existente não estão em significativo risco para perda de inserção (65). Pacientes suscetíveis com periodontite estão em alto risco para nova perda de inserção (45). Assim, a gengivite estabelecida parece não fazer prontamente (imediatamente) a transição para a periodontite. Em outras palavras, em alguns indivíduos suscetíveis o estado de gengivite que precede a periodontite parece ter uma apresentação clínica muito passageira que é rapidamente modificada durante o caminho de desenvolvimento da periodontite. Mais adiante, todos os locais nestes pacientes suscetíveis com periodontite permanecem em risco de uma futura

perda de inserção , mesmo após tratamento. Em pacientes deste tipo, o escasso controle da placa e inflamação da gengiva irá virtualmente resultar sempre num futuro colapso periodontal.

Na última década foi ganha uma nova apreciação do papel essencial da bactéria na iniciação da periodontite, mas a gravidade da doença é determinada pela magnitude e qualidade da reação externa ao biofilme microbiano. Um argumento pode ser dado de que a gengivite e a periodontite dividem os mesmos fatores de causa mas representam diferentes manifestações clínicas do mesmo processo fundamental de doença devido às diferenças em como o hospedeiro responde ao desafio microbiano. Por exemplo, em termos simples, o paciente faz o papel de hospedeiro à microbiota e serve para incubar a flora oral comum. O biofilme segue um processo de maturação previsível. Alguns pacientes servem como meros incubadores devido a ruptura mecânica recorrente do biofilme dental e efetivas reações de neutrófilos do hospedeiro. Como resultado, a maturação natural do biofilme seja sufocada ou talvez estancada e tais indivíduos se apresentariam clinicamente como pacientes de gengivite que podem ter um local ou dois de sangramento na sonda e alguma perda de inserção. Mesmo após muitos anos de exposição a fontes exógenas de patógenos periodontais, tal como a *P. gingivalis*, os organismos não podem nunca realmente se estabelecer bem o suficiente no ambiente fornecido pelo hospedeiro para emergir como membros dominantes do biofilme. Assim, o paciente permanecerá não suscetível.

Em contraste, outro paciente apresentando o mesmo biofilme microbiano pode servir mais como um criador e menos como um incubador combativo (46) , permitindo que espécies anaeróbicas, gram-negativas que exigem nutrientes e fatores de crescimento derivados do hospedeiro tal como os peptídeos ocupem o biofilme. Qualquer exposição exógena à patogênese periodontal neste ambiente do hospedeiro poderia causar uma futura perda de inserção. Mais adiante, este ambiente do hospedeiro não permitiria nunca uma gengivite estável, já que o hospedeiro é mais reativo ao desafio bacteriano e as condições do hospedeiro levarão à uma maturação natural do biofilme, conduzindo ao estabelecimento de uma biota gram-negativa viçosa

contendo altos níveis de bactéria periodontopática. A gengivite provavelmente precedeu a periodontite em pacientes suscetíveis, mas a distinção entre as duas condições é provavelmente obscurecida e transitória na melhor das hipóteses. Muito mais importante, a gengivite que é prodromal à periodontite nesta circunstância seguiria um curso clínico distintamente diferente da gengivite não progressiva. Neste contexto, a gengivite e a periodontite realmente representam duas diferentes manifestações clínicas do mesmo processo patológico. A diferença em manifestações clínicas é devida a diferenças intrínsecas no hospedeiro que modificam simultaneamente tanto a reação destrutiva à bactéria quanto o crescimento natural e maturação potencial do biofilme (105). Talvez a questão errada esteja sendo colocada em tentar entender a transição de gengivite para periodontite, uma vez que ambas condições podem representar o mesmo processo patogênico com expressões clínicas variadas em diferentes pessoas com diferentes níveis de suscetibilidade.

Se for provado que este conceito é válido, podem haver algumas ramificações importantes. Indivíduos suscetíveis à periodontite teriam uma fase de gengivite mínima ou discernível mas iria rapidamente a uma iniciação de periodontite. Em tais sujeitos, prevenir a gengivite como uma estratégia para prevenir a periodontite pode não ser eficaz. Estes indivíduos podem exigir um controle mais extremo da bactéria e/ou uma terapia de modulação do hospedeiro. Em sujeitos não suscetíveis à periodontite, a gengivite pode ser tão estável que preveni-la não seja necessário para impedir a iniciação da periodontite. Além disso, terapias que bloqueiam a progressão da doença periodontal podem não atingir a gengivite. Os efeitos das drogas anti-inflamatórias não esteroidais na progressão da doença periodontal pode ser um exemplo, já que elas são eficazes na prevenção da perda de inserção e de osso mas tem apenas um pequeno efeito na inflamação gengival em pacientes suscetíveis ou em gengivite experimental.

8.9. Mecanismos de destruição do tecido na periodontite

Um dos pontos de maior interesse é o importante progresso feito na compreensão dos mecanismos básicos pelos quais as bactérias presentes em biofilmes subgingivais e seus produtos e componentes mediam as mudanças patológicas características da periodontite. Estes caminhos são agora compreendidos para se começar a planejar tratamentos que alterem os eventos e resultados. O foco são as alterações patológicas em componentes da matriz extracelular da gengiva e do ligamento periodontal e reabsorção do osso alveolar .

As mudanças consistem predominantemente na destruição do colágeno, proteoglicanas e outros componentes da matriz extracelular. A evidência de destruição é notada primeiro na região do plexo vascular bem abaixo do epitélio juncional. Ao passo que a doença avança, a área inflamada do tecido conjuntivo aumenta e eventualmente vem a ocupar virtualmente toda a gengiva marginal. O infiltrado inflamatório geralmente não se estende para o ligamento periodontal. Ao invés disso, a matriz extracelular do ligamento é destruída a medida que o osso alveolar é reabsorvido. À medida que a doença progride, o tecido conjuntivo fibroso é repostado com uma infiltração densa de células inflamatórias, e o osso alveolar é destruído. A destruição da matriz extracelular é geralmente vista como patológica e indesejável, mas é uma parte essencial do processo imunoinflamatório já que é necessário para criar espaço para ocupação pelas crescentes populações de leucócitos infiltrantes. Em lesões avançadas de longa duração, manifestações de fibrose e a característica marcante de doenças inflamatórias crônicas podem ser vistas histológica e clinicamente. Espécies específicas de bactéria no biofilme subgingival na(s) raízes do dente finalmente iniciam a destruição da matriz extracelular e do osso alveolar , e algumas espécies, tal como a *P. gingivalis* produzem famílias de potentes enzimas, incluindo a colagenase. No entanto, virtualmente, todas as colagenases encontradas nos tecidos

periodontalmente doentes derivam de células do hospedeiro, não da bactéria. A bactéria leva à destruição, atraindo e ativando as células do hospedeiro que realizam a destruição observada.

Embora a maioria das matrizes extracelulares da gengiva e do ligamento periodontal esteja destruída e várias porções de osso alveolar estejam reabsorvidas na periodontite avançada, o progresso da doença não é unidirecional. Ele é interativo e sendo constantemente ajustado como um resultado de múltiplos desafios microbianos em mudança e defesas externas múltiplas sistêmicas e locais. Assim, além da atividade destrutiva, manifestações de tentativa na regeneração e cura são também aparentes em cortes histológicos. Os altos e baixos da destruição com elevações e declínios na extensão da imunoinflamação, muda em números e nas proporções de várias células inflamatórias e na flutuação de níveis de várias citocinas, prostaglandinas e moléculas inibidoras e efetadoras tal como a matriz metaloproteína e os inibidores do tecido da matriz metaloproteína. A natureza interativa da patogênese é refletida clinicamente por períodos de aparente passividade de várias extensões seguido de acessos de atividade destrutiva da doença.

Embora muitos detalhes estejam deficientes, os eventos globais que resultam na destruição do tecido conjuntivo, e em menor extensão, na reabsorção do osso alveolar são razoavelmente bem entendidos. Os antígenos e outros componentes da bactéria periodontopática, especialmente os lipopolisacarídeos, estimulam os leucócitos infiltrantes e as células residentes a produzir citocinas e prostaglandinas, e induzem a produção das matrizes metaloproteínas e outras enzimas proteolíticas e mediadores adicionais pelos monócitos e macrófagos, fibroblastos residentes, epitélio juncional e endotélio. Os neutrófilos infiltrantes também participam. Coletivamente, estas moléculas mediam a destruição do tecido conjuntivo e o osso alveolar.

8.10. Transição de um sítio periodontal estável para a progressão de doença ativa

Anteriormente aos anos 80, a presença de bolsas periodontais era equiparada à periodontite ativa. Diversos estudos longitudinais conduzidos nos anos 80 (57, 63, 64) modificaram esta visão. Estes estudos demonstraram claramente que tanto bolsas periodontais de doença ativa progressiva quanto de doença não ativa existem. A maioria dos sítios periodontais (geralmente mais de 90%) na maioria dos pacientes adultos de periodontite são de doença inativa e não progressiva, e a ocorrência de locais de doença ativa é relativamente raro e esporádico. A maioria dos locais de doença ativa ocorre em proporções muito pequenas nos pacientes. Estas observações focaram sua atenção para a natureza da transição de um local periodontal estável para um local de doença ativa progressiva.

A transição de um local estável para um de doença ativa pode ou não ser o mesmo da transição da gengivite para a periodontite. Lesões de gengivite e lesões de periodontite podem diferir consideravelmente desde o começo do desafio microbiano. Este não seria o caso para a transição de uma já existente mas estável bolsa periodontal para um local de doença ativa. Se a doença periodontal está para progredir, o desafio microbiano, os biofilmes subgengivais, devem continuar presentes, embora em alguns indivíduos a magnitude do desafio possa ser surpreendentemente pequena em quantidade. Além disso, deve haver uma inflamação presente e destruição dos componentes da matriz extracelular manifestada como uma perda de inserção clínica e uma perda do osso alveolar. As bolsas podem ou não se tornar mais profundas.

Teoricamente, pode-se esperar que as características da progressão da doença consistam numa presença contínua de lipopolissacarídeo e outros componentes de bactéria, e de um infiltrado de células inflamatórias, altos níveis de citocinas, pró-inflamatórias, incluindo a IL-1 beta e o fator de necrose tumoral alfa e baixos níveis de IL-10 e fator beta transformador do crescimento, citocinas que suprimem a reação imuno-inflamatória, baixos níveis de inibidores de

metaloproteína do tecido e altos níveis de matriz metaloproteína e prostaglandina E2. Os macrófagos, os fibroblastos e em menor extensão outras células residentes e inflamatórias ativados pelo lipopolisacarídeo e citocinas, especialmente a IL-1 beta e o fator de necrose tumoral alfa, produzem matriz metaloproteína e prostaglandina E2 e podem mantê-las a níveis patogênicos.

9. CONCLUSÕES

Através desta pesquisa bibliográfica concluiu-se que a ação bacteriana é necessária para o estabelecimento da doença periodontal, mas não é suficiente para que o dano ocorra, necessitando de fatores predisponentes e/ou coadjuvantes tais como a ocorrência de doenças sistêmicas, hereditariedade, tabagismo, stress, fatores estes que tornam-se determinantes na ocorrência, progressão e severidade da doença periodontal.

O complexo interage com a agressão bacteriana e fatores externos adquiridos e inatos, determinando o resultado.

Está encaminhado um novo paradigma para a patogênese da doença periodontal, baseado em três pontos fundamentais:

Primeiro:

A microbiota subgingival é organizada nos biofilmes e manifesta as características destes. Sabemos que as bactérias estão protegidas das defesas externas e são resistentes a quimioterápicos, e que a ruptura física através de raspagem e alisamento radicular é um tratamento eficaz.

Segundo:

Avanços genéticos, celulares e moleculares tem sido feitos para estudar e compreender os mecanismos pelos quais a ação dos biofilmes iniciam e perpetuam a reação imunoinflamatória destrutiva.

Terceiro:

Embora a ação bacteriana seja a origem da doença periodontal, isoladamente é insuficiente.

Uma suscetibilidade do hospedeiro se faz necessária. Fatores de risco ambientais, adquiridos e genéticos alteram os caminhos bacterianos e determinam a suscetibilidade, o aparecimento, a progressão, a gravidade e o resultado.

Este novo enfoque proporciona alternativas para abordagens de prevenção e controle.

Desde que foi identificada, na década de 60, a característica infecciosa da periodontite, a prevenção e o tratamento tem por objetivo exclusivamente as bactérias, sua eliminação ou redução a níveis abaixo daqueles necessários para perpetuar a doença.

A ruptura física, caracterizada pela raspagem e alisamento radicular, objetivando a remoção dos biofilmes subgingivais permanecerão como essência da terapia periodontal. Todavia, o novo paradigma modifica a abordagem tradicional para explicar os fatores de risco e os fatores externos.

Nesta visão, a periodontia está mudando de uma fase de diagnóstico e tratamento existente para a prevenção e promoção de saúde.

A redução dos níveis de risco deve se tornar o primeiro objetivo a intervirmos.

Identificar os fatores que colocam os indivíduos em grupos de risco elevado, administrar estes riscos e preveni-los são de fundamental importância.

O maior potencial para um futuro controle ou eliminação virtual da doença periodontal emana de avanços na compreensão do papel da hereditariedade, na determinação da suscetibilidade e na gravidade da doença. Embora este campo esteja em seu início, o suficiente já se sabe para ter-se uma visão de futuro.

10. BIBLIOGRAFIA

1. AKATSU T., TAKAHASHI N., UDAGAWA N., IMAMURA K, YAMAGUCHI A., SATO K., NAGATA N., SUDA T. Role of prostaglandins in interleukin-1-induced bone resorption in mice in vitro. *J Bone Miner Res* 1991; 6: 183-190.
2. ALBERS H. K., LONING T., LISBOA B. P. Biochemische und morphologische Untersuchungen über die Prostaglandine E und F der normalen und entzündlich veränderten Gingiva. *Dtsch Zahn Z* 1979; 34: 440-443.
3. ALEXANDER P., EVANS R. Endotoxin and double stranded RNA render macrophages cytotoxic. *Nature New Biol* 1971; 232: 76-78.
4. AMIN ^a R., ATTUR M. G., THAKKER G. D., PATEL P. D., VYAS P. R., PATEL R. N., PATEL I. R., ABRASON S. B. A novel mechanism of action of tetracyclines: effects on nitric oxide synthases. *Proc Natl Acad Sci U. S. ^a* 1996; 93: 14014-14019.
5. ARNER E. C., PRATTA M. A., FREIMARK B., LISCHWE M., TRZASKOS J. M., MAGOLDA R. L., WRIGHT S. W. Isothiazolones interfere with normal matrix metalloproteinase activation and inhibit cartilage proteoglycan degradation. *Biochem J* 1996; 318: 417-424.
6. BABB J. L., KIYONO H., MCGHEE J. R., MICHAELICK S. LPS regulation of the immune response: suppression of immune responses to orally administered T-independent antigens. *J Immunol* 1981; 127: 1052-1057.
7. BASBAUM C. B., WERB Z. Focalized proteolysis: spatial and temporal regulation of extracellular matrix degradation at the cell surface. *Curr Opin Cell Biol* 1996; 8: 731-738.
8. BECK J., GARCIA R., HEISS G., VOKONAS P. S., OFFENBACHER S. Periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol* 1996; 67: 1123-1137.
9. BELLIDO T., JILKA R. L., BOYCE B. F., GIRASOLE, G., BROXMEYER H., DALRYMPLE S. ^a, MURRAY R., MANOLAGAS S. C. Regulation of interleukin-6, osteoclastogenesis, and bone mass by androgens. The role of the androgen receptor. *J. Clin Invest* 1996; 95: 2886-2895.
10. BERTOLINI D. R., NEDWIN G. E., BRINGMAN T. S., SMITH D. D., MUNDY G. R. Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumour necrosis factors. *Nature* 1986; 319: 516-518.
11. BERTOLINI D. R., VOTTA B., HOFFMAN S., STRASSMANN G. Interleukin 6 production in fetal rat long bone cultures is correlated with PGE2 release and does not correlate with the extent of bone resorption. *Cytokine* 1994; 6: 368-375.
12. BIRKEDAL-HANSEN H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodont Res* 1993; 28: 500-510.
13. _____. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol* 1993; 64: 474-484.
14. _____. Proteolytic remodeling of extracellular matrix. *Curr Opin Cell Biol* 1995; 7: 728-735.
15. BIRKEDAL-HANSEN H., WERB Z., WELGUS H. G., VAN WART H. E., ed. *Matrix metalloproteinases and inhibitors*. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1992.
16. BRECKON J. J. W. HEMBRY R. M., REYNOLDS J. J., MEIKLE M. C. Regional and temporal changes in the syntesis of matrix metalloproteinases and TIMP-1 during development of the rabbit mandibular condyle. *J Anat* 1994; 184: 99-110.

17. CANALIS E. Interleukin-1 has independent effects on deoxyribonucleic acid and collagen synthesis in cultures of rat calvariae. *Endocrinology* 1986; 118: 74-81.
18. CANALIS E., MCCARTHY T. L., CENTRELLA M. Effects of platelet-derived growth factor on bone formation in vitro. *J Cell Physiol* 1989; 140: 530-537.
19. CHOLE R. A., FADDIS B. T., TINLING S. P. In vitro inhibition of localized bone resorption by human recombinant interleukin-1 receptor antagonist. *J Bone Miner Res* 1995; 10: 281-284.
20. COLDITZ I. G. Effects of exogenous prostaglandin E2 and actinomycin D on plasma leakage induced by neutrophil activating peptide-1/IL-8. *Immunol Cell Biol* 1990; 68: 397-403.
21. Consensus report on periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol* 1996; 1: 926-932.
22. COSTERTON J. W., LEWANDOWSKI Z., DEBEER D., CALDWELL D., KORBER D., JAMES G. Biofilms, the customized microniche. *J Bacteriol* 1994; 176: 2137-2142.
23. COUPRON P., MEUNIER P., BRESSOT C., GIROUX J. M. Amount of bone iliac crest biopsy. Significance of the trabecular bone volume. Its value in normal and in pathological conditions. In: MEUNIER P. J., ed. *Bone histomorphometry*. Paris: Armour Montagu, 1977: 39-47.
24. CROUT, R. J., LEE H. M., SCHROEDER, K. The "cyclic" regimen of low-dose doxycycline for adult periodontitis: a preliminary study. *J Periodontol* 1996; 67: 506-514.
25. CZUSZAK C. ^a, SUTHERLAND D. E., BILLMAN M. ^a, STEIN S. H. Prostaglandin E2 potentiates interleukin-1(induced interleukin-6 production by human gingival fibroblasts. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 635-640.
26. DARVEAU R. P., TANNER A., PAGE R. C. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol 2000* 1997; 14: 12-32.
27. DECLERCK Y. A., IMREN S. Protease inhibitors: role and potential therapeutic use in human cancer. *Eur J Cancer* 1994; 30A: 2170-2180.
28. DELAISSE J-M, VAES G. Mechanism of mineral solubilization and matrix degradation in osteoclastic bone resorption. In: RIFKIN B. R., GAY C. V., ed. *Biology and physiology of the osteoclast*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1992: 289-314.
29. DENNISON D. K., VAN DYKE T. The role of phagocytic cells, antibody and complement in periodontal health and disease. *Periodontol 2000* 1997; 14: 54-78.
30. DEPORTER D. A., BROWN D. Y. Fine structural observations on the mechanism of loss of attachment during experimental periodontal disease in the rat. *J Periodont Res* 1980; 15: 304-313.
31. EDWARDS D. R., MURPHY G., REYNOLDS J. L., WHITHAM S. E. DOCHERTY ^a J. P., ANGEL P., HEATH J. K. Transforming growth factor beta modulates the expression of collagenase and metalloproteinase inhibitor. *EMBO J* 1987; 6: 1899-1904.
32. ELLISON, S. ^a Oral bacteria and periodontal disease. *J Dent Res* 1970; 49: 198-202.
33. EVERTS V., DELAISSE J-M, KORPER W., NICHOF A., VAES G. BEERTSEN W. Degradation of collagen in the bone-resorbing compartment underlying the osteoclast involves both cysteine-proteinases and matrix metalloproteinases. *J Cell Physiol* 1992; 150: 221-231.
34. EVERTS V., VAN DER ZEE E., CREEMERS L., BEERTSEN W. Phagocytosis and intracellular digestion of collagen, its role in turnover and remodelling. *Histochem J* 1996; 28: 229-245.
35. FANG J., ZHU Y-Y, SMILEY E., BONADIO J., ROULEAU J. P., GOLDSTEIN S. A., MCCAULEY L. K., DAVIDSON B. L., ROESSLER B. J. Stimulation of new bone formation by direct transfer of osteogenic plasmid genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 5753-5758.

36. FELDMAN R. S., SZETO B., CHAUNCEY H. H., GOLDHABER P. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in the reduction of alveolar bone loss. *J Clin Periodontol* 1983; 10: 131-136.
37. FINKELSTEIN J. S., KLIBANSKI A., NEER R. M., DOPPELT S. H., ROSENTHAL D. I., SEGRE G. V., GROWLEY W. F. JR. Increases in bone density during treatment of men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69: 776-783.
38. FORESTA C., RUZZA G., MIONI R., GUARNERI G., GRIBALDO R., MENEGHELLO ^a, MATROGIACOMO I. Osteoporosis and decline of gonadal function in the elderly male. *Hormone Res* 1984; 19: 18-22.
39. FROST H. M. Dynamics of bone remodeling. In: FROST H. M., ed. *Bone biodynamics*. Boston: Little Brown, 1964: 315-333.
40. GENCO R. J. Host responses in periodontal diseases: current concepts. *J Periodontol* 1992; 53: 338-355.
41. GENCO R. J., EVANS R. T., ELLISON S. ^a Dental research in microbiology with emphasis on periodontal disease. *J Am Dent Assoc* 1969; 78:1016-1036.
42. GOODSON J. M., DEWHIRST F. E., BRUNETTI A. Prostaglandin E₂ levels and human periodontal disease. *Prostaglandins* 1974; 6: 81-85.
43. GOWEN M., CHAPMAN K., LITTLEWOOD A., HUGHES D., EVANS D., RUSSELL G. Production of tumor necrosis factor by human osteoblasts is modulated by other cytokines, but not by osteotropic hormones. *Endocrinology* 1990; 126: 1250-1255.
44. GOWEN M., MEIKLE M. C., REYNOLDS, J. J. Stimulation of bone resorption in vitro by a nonprostanoid factor released by human monocytes in culture. *Biochim Biophys Acta* 1983; 762: 471-474.
45. HAFFAJEE A. D., SOCRANSKY, S. S., LINDHE J., KENT R. L., OKAMOTO H., YONEYAMA T. Clinical risk indicators for periodontal attachment loss. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 117-125.
46. HART T. C., KORNMAN K. S. Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000 1997; 14: 202-215.
47. HAYAKAWA H., YAMASHITA K., OHWAKI K., SAWA M., NOGUCHI T., IWATA K., HAYAKAWA T. Collagenase activity and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) content in human whole saliva from clinically healthy and periodontally diseased subjects. *J Periodont Res* 1994; 29: 305-308.
48. HEASMAN P. A., COLLIN J. G., OFFENBACHER S. Changes in crevicular fluid levels of interleukin 1 α , leukotriene B₄, prostaglandin E₂, tromboxane B₂ and tumor necrosis factor (in experimental gingivitis in humans. *J Periodont Res* 1993; 28: 241-247.
49. HEATH J. K., ATKINSON S. J., HEMBRY R. M., REYNOLDS J. J., MEIKLE M. C. Bacterial antigens induce collagenase and prostaglandin E₂ synthesis in human gingival fibroblasts through a primary effect on circulating mononuclear cells. *Infect Immun* 1987; 55: 2148-2154.
50. HILL P. A., BUTTLE D. J., JONES S. J., BOYDE A., MURATA M., REYNOLDS J. J., MEIKLE M. C. Inhibition of bone resorption by selective inactivators of cysteine proteinases. *J Cell Biochem* 1994; 56: 118-130.
51. HILL P. A., MURPHY G., DOCHERTY A. J. P., HEMBRY R. M., MILLICAN T. A., REYNOLDS J. J., MEIKLE M. C. The effects of selective inhibitors of matrix metalloproteinases (MMPs) on bone resorption osteoclasts. *J Cell Sci* 1994; 107: 3055-3064.

52. HILL P. A., COCHERTY A. J. P., BOTTOMLEY K. M. K., O'CONNELL J. P., MORPHY J. R., REYNOLDS J. J., MEIKLE M. C. Inhibition of bone resorption in vitro by selective inhibitors of gelatinase and collagenase. *Biochem J* 1995; 308: 167-175.
53. HOLMES L. G., EL ATTAR T. M. A. Gingival inflammation assessed by histology, 3H-estrone metabolism and PGE2 levels. *J Periodont Res* 1977; 12: 500-509.
54. HOWELL T. H., FIORELLINI J. P., WEBER H. P., WILLIAMS R. C. Effect of the NSAID piroxicam, topically administered, on the development of gingivitis in beagle dogs. *J Periodont Res* 1991; 26: 180-183.
55. ISHIKAWA I., NAKASHIMA K., KOSCKI T., NAGASAWA T., WATANABE H., ARAKAWA S., NITTA H., NISHIHARA T. Induction of the immune response to periodontopathic bacteria and its role in the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000 1997; 1997: 14: 71-111.
56. JEE W. S., UENO K., KIMMEL D. B., WOODBURY D. M., PRICE P., WOODBURY L. A. The role of bone cells in increasing metaphyseal hard tissue in rapidly growing rats treated with prostaglandin E2. *Bone* 1987; 8: 171-178.
57. JENKINS W. M. M., MACFARLANE T. W., GILMOUR W. H. Longitudinal study of untreated periodontitis. Clinical findings. *J Clin Periodontol* 1988; 15: 324-330.
58. KORNMAN K. S., BLODGETT R. F., BRUNSVOLD M., HOLT S. C. Effects of topical applications of meclizolene and ibuprofen on bone loss, subgingival microbiota and gingival PMN response in the primate *Macaca fascicularis*. *J Periodont Res* 1990; 25: 300-307.
59. KORNMAN K. S., CRANE A., WANG H-Y, DI GIOVINE F. S., NEWMAN M. G., PIRK F. W., WILSON T. G. JR., HIGGINBOTTOM F. L., DUFF G. W. The interleukin 1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 72-77.
60. KUMEGAWA M., HIRAMATSU M., HATAKEYAMA K., YAJIMA T., KODAMA H., OSAKI T., KURISU K. Effects of epidermal growth factor on osteoblastic cells in vitro. *Calcif Tissue Int* 1983; 35: 542-548.
61. LARIVÉE J., SODEK J., FERRIER J. M. Collagenase and collagenase inhibitor activities in crevicular fluid of patients receiving treatment for localized juvenile periodontitis. *J Periodont Res* 1985; 21: 702-715.
62. LEE W., AITKEN S., SODEK J., MCCULLOCH C. A. G. Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. *J Periodont Res* 1995; 30: 23-33.
63. LINDHE J., HAFFAJEE A. D., SOCRANSKY S. S. Progression of periodontal disease in adult subjects in the absence of periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1983; 10: 433-442.
64. LINDHE J., OKOMOTO H., YONEYAMA T., HAFFAJEE A. D., SOCRANSKY S. S. Longitudinal changes in periodontal disease in untreated subjects. *J Clin Periodontol* 1989; 16: 662-670.
65. LISTGARTEN M. A., SCHIFTER C. C., LASTER L. 3-year longitudinal study of the periodontal status of an adult population with gingivitis. *J Clin Periodontol* 1985; 12: 225-238.
66. LONGHURST P., GILLET R., JOHNSON N. W. Electron microscope quantitation of inflammatory infiltrates in childhood gingivitis. *J Periodont Res* 1980; 15: 255-266.
67. LORENZO J. A., SOUSA S. L., ALANDER C., RAISZ L. G., DINARELLO C. A. Comparison of the bone-resorbing activity in the supernatants from phytohemagglutinin in stimulated human peripheral blood mononuclear cells with that of cytokines through the use of an antiserum to interleukin 1. *Endocrinology* 1987; 121: 1164-1170.

68. LOWIK C. W., VAN DER PLUIJM G., BLOYS H., HOEKMAN K., BIJVOET O. L., AARDEN L. A., PAPAPOULUS S. E. Parathyroid hormone (PTH) and PTH-like protein (PLP) stimulate interleukin-6 production by osteogenic cells - a possible role of interleukin-6 in osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1989; 162: 1546-1552.
69. MEIKLE M. C., HEATH J. K., REYNOLDS J. J. Advances in understanding cell interactions in tissue resorption. Relevance to the pathogenesis of periodontal diseases and a new hypothesis. *J Oral Pathol* 1986; 15: 239-250.
70. MEIKLE M. C., MCALPINE C. G., HEATH J. K., NEWMAN H. N., REYNOLDS J. J. Interleukin-1 production by peripheral blood mononuclear cells from patients with severe periodontitis. In: LEHNER T., CIMASONI G., ed. *The borderland between caries and periodontal disease*. Geneva: Editions Medicine at Hygiene, 1986: 283-290.
71. MEIKLE M. C., ATKINSON S. J., WARD R. V., MURPHY G., REYNOLDS J. J. Gingival fibroblasts degrade type I collagen films when stimulated with tumor necrosis factor and interleukin 1: evidence that breakdown is mediated by metalloproteinases. *J Periodont Res* 1989; 24: 207-213.
72. MEIKLE M. C., MCFARLAND C. G., NEWMAN H. N., REYNOLDS J. J. Cytokines and connective tissue degradation in chronic inflammatory periodontal disease. In: NEWMAN H. N., WILLIAMS D. M. ed. *Inflammation and immunology in chronic inflammatory periodontal disease*. Northwood: Science Reviews, 1992: 87-106.
73. MEIKLE M. C., HEMBRY R. M., HOLLEY J., HORTON C., MCFARLANE C. G., REYNOLDS J. J. Immunolocalization of matrix metalloproteinases and TIMP-1 (tissue inhibitor of metalloproteinases) in human gingival tissues from periodontitis patients. *J Periodont Res* 1994; 29: 118-126.
74. MELSEN F., MOSEKILDE L. Tetracycline double-labeling of iliac trabecular bone in 41 normal adults. *Calcif Tissue Res* 1978; 26: 99-102.
75. MERGENHAGEN S. E. Thymocyte activating factor(s) in human gingival fluids. *J Dent Res* 1984; 63: 461-464.
76. MIZUNO Y., HOSOL T., INOUE S., IKEGAMI ^a, KANEKI M., AKEDO Y., NAKAMURA T., OUCHI Y., CHANG C., ORIMO H. Immunocytochemical identification of androgen receptor in mouse osteoclast-like multinucleated cells. *Calcif Tissue Int* 1994; 54: 325-326.
77. MOTOYAMA T., HOTTA T., WATANABE H., KUMANISHI T., ICHIKAWA T., SEKIGUCHI M. Differential production of interleukin 6 in human osteosarcoma cells and the possible effects on neoplastic bone metabolism. *Virchows Arch* 1993; 63: 277-281.
78. MUNDY G. R. Peptides and growth regulatory factors in bone. *Rheumatol Dis Clin North Am* 1994; 20: 577-588.
79. MURPHY G., REYNOLDS J. J. Extracellular matrix degradation. In: ROYCE P. M., STEINMANN B., ed. *Connective tissue and its heritable disorders*. New York: Wiley-Liss, 1993: 287-316.
80. MURPHY G., ATKINSON S., WARD R., GRAVILOVIC J., REYNOLDS J. J. The role of plasminogen activators in the regulation of connective tissue metalloproteinases. *Ann Não Y Acad Sci* 1992; 667: 1-12.
81. MURPHY G., WILLENBROCK F., WARD R., O'SHEA M., DOCHERTY ^a Studies on the structure and function of the matrix metalloproteinases and their inhibitors. In: BOND J. S., BARRETT ^a J., ed. *Proteolysis and protein turnover*. Colchester: Portland Press, 1994: 25-32.
82. NEWTON R. C., COVINGTON M. The activation of human fibroblast prostaglandin E production by interleukin 1. *Cell Immunol* 1987; 110: 338-349.

83. NISHIHARA T., OHSAKI Y., UEDA N., SAITO N., MUNDY G. R. Mouse interleukin-1 receptor antagonist induced by *Actionobacillus actinomycetemcomitans* lipopolysaccharide blocks the effects of interleukin-1 on bone resorption and osteoclast-like cell formation. *Infect Immun* 1994; 62: 390-397.
84. OFFENBACHER S., KATZ V., FERTIK G., COLLINS J., BOYD D., MAYNOR G., MCKAIG R., BECK J. Periodontal infection as a possible risk factor for preterm low birth weight. *J Periodontol* 1996; 67: 1103-1113.
85. OFFENBACHER S., ODLE B. M., BRASWELL L. D., JOHNSON H. G., HALL C. M., MCCLURE H., ORKIN J. L., STROBERT E. ^a, GREEN M. D. Changes in cyclooxygenase metabolites in experimental periodontitis in *Macaca mulatta*. *J Periodont Res* 1989; 24: 63-74.
86. OFFENBACHER S., ODLE B. M., VAN DYKE T. E. The use of crevicular fluid PGE2 levels as a predictor of periodontal attachment loss. *J Periodont Res* 1986; 21: 101-112.
87. ORWOLL E. S. Androgens. In: BILEZIKIAN J. P., RAISZ I. G., RODAN G. ^a ed. *Principles of bone biology*. San Diego: Academic Press, 1996: 563-580.
88. OURSLER M. J., OSDOBY P., PYFFEROEN J., RIGGS B. L., SPELSBERG T. C. Avian osteoclasts as estrogen target cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 6613-6617.
89. OVERALL C. M., WIEBKIN ^o W., THONARD J. C. Demonstration of tissue collagenase activity in vivo and its relationship to inflammation severity in human gingiva. *J Periodont Rs* 1987; 22: 81-88.
90. PAGE R. C. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res* 1991; 26: 230-242.
91. PAGE R. C., BECK J. D. Risk assessment for periodontal diseases. *Int Dent J* (in press).
92. PAGE R. C., KORNMAN K. S. The pathogenesis of human periodontitis: na introduction. *Periodontol 2000* 1997; 14: 8-11.
93. PAGE R. C., SCHROEDER H. E. Pathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: a summary of current work. *Lab Invest* 1976; 33: 235-249.
94. PAGE R. C. SCHROEDER H. E. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease: a summary of current work. *Lab Invest* 1976: 34-235.
95. PARFITT ^a M. The coupling of bone formation to bone resorption: a critical analysis of the concept and of its relevance to the pathogenesis of osteoporosis. *Metab Bone Dis Rel Res* 1982 4: 1-6.
96. PARFITT ^a M. The physiologic and clinical significance of bone histomorphometric data. In: RECKER R. R. ed. *Bone histomorphometry, techniques and interpretation*. Boca Raton, F. L.: CRC Press, 1983: 143-223.
97. PASSERI G., GIRASOLE G., MANOLAGAS S. C., JILKA R. L. Endogenous production of tumor necrosis factor by primary cultures of murine calvarial cells: influence on IL-6 production and osteoclast development. *Bone Miner* 1994; 24: 109-126.
98. PAYNE W. ^a, PAGE R. C., OGILVIE ^a L., HALL W. B. Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. *J Periodont Res* 1975; 10: 51-64.
99. POURTAGHI N., RADVAR M., MOONEY J., KINANE D. F. The effect of subgingival antimicrobial therapy on the levels of stromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinases in gingival crevicular fluid. *J Periodontol* 1996; 67: 866-870.
100. REDDI ^a H., WIENTROUB S., MUTHUKUMARAN N. Biologic principles of bone induction. *Orthop Clin North Am* 1987; 18: 207-212.
101. REYNOLDS J. J., HEMBRY R. M., MEIKLE M. C. Connective tissue degradation in health and periodontal disease and the roles of matrix metalloproteinases and their natural inhibitors. *Adv Dent Res* 1994; 8: 312-319.

102. RICHARDS D., RUTHERFORD R. B. The effects of interleukin 1 on collagenolytic activity and prostaglandin-E secretion by human periodontal-ligament and gingival fibroblast. *Arch Oral Biol* 1988; 33: 237-243.
103. RIES C., PETRIDES P. E. Cytokine regulation of matrix metalloproteinase activity and its regulatory dysfunction in disease. *Biol Chem Hoppe-Seyler* 1995; 376: 345-355.
104. RYAN M. E., RAMAMURTHY N. S., GOLUB L. M. Matrix metalloproteinases and their inhibition in periodontal treatment. *Curr Opin Periodontol* 1996; 3: 85-96.
105. SALVI G. E., LAWRENCE H. P., OFFENBACHER S., BECK J. D. Influence of risk factors on the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol* 2000 1997; 14: 173-201.
106. SCHROEDER H. E., GRAF-DE BEER M., ATTSTROM R. Initial gingivitis in dogs. *J Periodont Res* 1975; 10: 128-142.
107. SCHWARTZ Z., DENNIS R., BONEWALD L. F., SWAIN L. D. GOMEZ R., BOYAN B. D. Differential regulation of prostaglandin E2 synthesis and phospholipase A2 activity by 1,25-(OH)2D3 in three osteoblast-like cell lines (MC-3T3-E1, ROS 17/2.8, and MG-63). *Bone* 1992; 13: 51-58.
108. SEDLIN E. D. The ratio of cortical area to total cross section area in rib diaphysis. A quantitative index of osteoporosis. *Clin Orthop* 1964; 36: 161-168.
109. SELVIG K. ^a Ultrastructural changes in cementum and adjacent connective tissue in periodontal disease. *Acta Odontol Scand* 1966; 24: 459-500.
110. _____. Nonbanded fibrils of collagenous nature in human periodontal connective tissue. *J Periodont Res* 1968; 3: 169-179.
111. SEYMOUR G. J. Importance of the host response in the periodontium. *J Clin Periodontol* 1991; 18: 421-426.
112. SMITH D. D., GOWEN M., MUNDY G. R. Effects of interferon gamma and other cytokines on collagen synthesis in fetal rat bone cultures. *Endocrinology* 1987; 120: 2494-2499.
113. SMITH G. N., BRANDT K. D., HASTY K. ^a Activation of recombinant human neutrophil procollagenase in the presence of doxy-cycline results in fragmentation of the enzyme and loss of enzyme activity. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 235-244.
114. SOCRANSKY S. S. Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. *J Dent Res* 1970; 49: 203-222.1
115. SORSA T., INGMAN T., SUOMALAINEN K., HAAPASALO M., KONTTINEN Y. T., LINDY °, SAARI H., UITTO V.-J. Identification of proteases from periodontopathogenic bacteria as activators of latent human neutrophil and fibroblast-type interstitial collagenases. *Infect Immun* 1992; 60: 4491-4495.
116. STEPAN J. J., LACHMAN M., ZVERINA J., PACOVSKY V., BAYLINK D. J. Castrated men exhibit bone loss: effect of calcitonin treatment on biochemical indices of bone remodeling. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69: 523-527.
117. STOCKER W., GRAMS F., BAUMANN U., REINEMER P., GOMIS-RUTH F.-X., MCKAY D. B., BODE W. The metzincins - topological and sequential relation between the astacins, adamlysins, serralsins, and matrixins (collagenases) define a super-family of zinc-peptidases. *Protein Sci* 1995; 4: 823-840.
118. SUMITANI K., KAWATA T., YOSHIMOTO T., YAMAMOTO S., KUMEGAWA M. Fatty acid cyclooxygenase activity stimulated by transforming growth factor-beta in mouse osteoblastic cells (MC373-E1). *Arch Biochem Biophys* 1989; 270: 588-595.
119. Suomalainen K., SORSA T., GOLUB L. M., RAMAMURTHY N., LEE H.-M., UITTO V.-J., SAARI H., KONTTINEN Y. T. Specificity of the anticollagenase action of tetracyclines: relevance to their antiinflammatory potential. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 227-229.

- relevace to their antiinflammatory potential. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 227-229.
120. TEW J. G., ZHANG J.-B., QUINN S., TANGATA S., NAKASHIMA K., GUNSOLLEY J. C., SCHENKEIN H. ^a, CALIFANO JV. Antibody of the IgG2 subclass, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and early-onset periodontitis. *J Periodontol* 1996; 67 (suppl): 317-322.
 121. TEWARI M., TUNCAY ° C., MILCHMAN ^a, REDDY P. J., REDDY C. D., CRESSMAN D. E., TAUB R., NEWTON R. C., TEWARI D. S. Association of interleukin-1-induced, NF(B DNA-binding activity with collagenase gene expression in human gingival fibroblasts. *Arch Oral Biol* 1996; 41: 461-468.
 122. THOMSON B. M., SAKLATVALA J., CHAMBERS T. J. Osteoblasts mediate interleukin-1 stimulation of bone resorption by rat osteoclasts. *J Exp Med* 1986; 164: 104-112.
 123. UEDA K., SAITO ^a, NAKANO H., AOSHIMA M., YOKOTA M., MURAOKA R., IWAYA T. Cortical hyperostosis following longterm administration of prostaglandin E1 in infants with cyanotic congenital heart disease. *J Pediatr* 1980; 97: 834-836.
 124. URIST M. R. Bone: formation by autoinduction. *Science* 1965; 150: 893-899.
 125. URIST M. R., DELANGE R. J., FINERMAN G. A. Bone cell differentiation and growth factors. *Science* 1983; 220: 680-686.
 126. VAN DER ZEE E., EVERTS V., BEERTSEN W. Cytokine-induced endogenous procollagenase stored in the extracellular matrix of soft connective tissue results in a burst of collagen breakdown following its activation. *J Periodont Res* 1996; 31: 483-488.
 127. VILLELA B., COGEN R. B., BARTOLUCCI ^a ^a, BIRKEDAL-HANSEN H. Collagenolytic activity in crevicular fluid from patients with chronic adult periodontitis, localized juvenile periodontitis and gingivitis, and from healthy control subjects. *J Periodont Res* 1987; 22: 381-389.
 128. WAITE I. M., SAXTON C. ^a, YOUNG ^a, WAGG B. J., CORBETT M. The periodontal status of subjects receiving non-steroidal antiinflammatory drugs. *J Periodont Res* 1981; 16: 100-108.
 - 129 WERYHA G., LECLERE J. Paracrine regulation of bone remodeling. *Horm Res* 1995; 43: 69-75.
 130. WILLIAMS R. C. Periodontal disease. *N Engl J Med* 1990; 322: 373-382.
 131. WILLIAMS R. C., JEFFCOAT M. K., HOWELL T. H. Naproxen treatment of periodontitis in beagles. *J Dent Res* 1989; 68: 243 (abstr).
 132. WILLIAMS R. C., JEFFCOAT M. K., HOWELL T. H. Three year trial of flurbiprofen treatment in humans: post treatment period. *J Dent Res* 1991; 70: 468 (abstr).
 133. WILLIAMS R. C., JEFFCOAT M. K., HOWELL T. H, ROLLA A., STUBBS D., TEOH K. W., REDDY M. S., GOLDHABER P. Altering the progression of human alveolar bone loss with the non-steroidal anti-inflammatory drug flurbiprofen. *J Periodontol* 1989; 60: 485-490
 134. WOOLLEY D. E., DAVIES R. M. Immunolocalization of collagenase in periodontal disease. *J Periodontol* 1989; 60: 485-490.
 135. YEWEY G. L., TIPTON ^a J., DUNN R. L. Evaluation of biodegradable subgingival delivery system for flurbiprofen. *J Dent Res* 1991; 70: 324 (abstr).
 136. YOON S. H. Distribution of fluorine in teeth and alveolar bone. *J Am Dent Assoc* 1960; 61: 565-570.
 137. YU X., ANTONIADES H. N., GRAVES D. T. Expression of monocyte chemoattractant protein 1 in human inflamed gingival tissues. *Infect Immun* 1993; 61: 4622-4628.
 138. ZACHRISSON B. U. A histological study of experimental gingivitis in man. *J Periodont Res* 1968; 3: 293-302.