

MMPs en la Patogenia de la Periodontitis Apical Crónica: ¿Destrucción o Protección de los Tejidos Periapicales?

MMPs in the Pathogenesis of Chronic Apical Periodontitis: Destructive or Protective Role of Apical Tissues?

Hernández RM^{1,4}, Saldaña GM², Dezerega PA^{3,4}

RESUMEN

La periodontitis apical crónica corresponde a una patología de alta prevalencia en la población chilena y constituye una causa frecuente de pérdida dentaria. Se produce como una manifestación de injuria tisular localizada, que presenta signos bien definidos de inflamación crónica con destrucción del periodonto apical, reabsorción ósea y la formación de un granuloma apical o quiste radicular inflamatorio.

Las metaloproteinasas de matriz extracelular (MMPs) degradan los componentes de la matriz y adicionalmente son capaces de potenciar los procesos proteolíticos e inflamatorios mediante el procesamiento de sustratos bioactivos, que incluyen citoquinas, quimioquinas, factores de crecimiento y activación de otras MMPs. Varias MMPs se han identificado en lesiones apicales y recientemente, nuestro grupo de trabajo demostró su presencia en el fluido crevicular gingival (FCG) de dientes con lesiones apicales.

A pesar de que tradicionalmente se ha atribuido a las MMPs un papel destructivo en las enfermedades inflamatorias, evidencia reciente sugiere que podrían desempeñar un papel protector frente a los procesos osteolíticos, proponiendo un nuevo enfoque sobre la función de las MMPs en estas lesiones. Un mayor conocimiento de las interacciones existentes entre las MMPs, sus sustratos bioactivos y los tejidos perirradiculares en la periodontitis apical y su análisis en el FCG, podrían eventualmente conducir a un mejoramiento de los métodos de diagnóstico, tratamiento y monitoreo clínico de esta patología; cuyo desarrollo se ha visto limitado, en parte, por la falta de métodos de estudio adecuados.

Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral Vol. 2(1); 23-26, 2009.

Palabras claves: MMPs, periodontitis apical crónica.

ABSTRACT

Chronic apical periodontitis is a prevalent disease among Chilean population and a frequent cause of tooth loss. It represents a manifestation of localized tissue injury with well-defined signs of chronic inflammation, destruction of apical periodontium, bone resorption and formation of an apical granuloma or cyst.

MMPs degrade extracellular matrix, and further potentiate proteolysis and inflammation by processing of bioactive substrates as cytokines, chemokines, growth factors and by activating other MMPs. MMPs have been previously demonstrated in apical lesions and recently, our group demonstrated its presence also in gingival crevicular fluid (GCF) of associated teeth. Despite MMPs have been traditionally assumed to play a destructive role in inflammatory diseases, recent evidence suggests a protective role of some MMPs over bone resorptive process. These studies open up new insights to the significance of MMP activity in the pathogenesis of chronic apical periodontitis. Thus, a deeper knowledge of the interactions between MMPs and their substrates in apical periodontitis and associated GCF changes, can eventually lead to improved diagnosis, treatment modalities and clinical monitoring, which have been hampered by the lack of proper methods to study these lesions.

Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral Vol. 2(1); 23-26, 2009.

Key words: MMPs, chronic apical periodontitis.

INTRODUCCIÓN

La periodontitis apical corresponde a la inflamación y destrucción de los tejidos perirradiculares, causada por infección bacteriana de la pulpa dentaria. Como resultado, se produce la degradación de la matriz extracelular del hueso y ligamento periodontal perirradicular con formación de un granuloma periapical o quiste radicular inflamatorio^(1,2).

La periodontitis apical crónica es altamente prevalente en la población chilena. Su causa más común corresponde a caries dental no tratada y conduce frecuentemente a la pérdida dentaria. A pesar de que en Chile no existen estudios epidemiológicos al respecto, se sabe que representan un 99,45% de las biopsias de tejido periapical recibidas en el Instituto de Referencia de Patología Oral, IREPO, de la Facultad de Odontología, Universidad de Chile entre los años 1975-2005⁽³⁾.

Las lesiones periapicales (LPAs) se desarrollan como resultado de la activación de la respuesta inmune frente a la estimulación antigénica continua proveniente de los restos pulpares necróticos en los canales radiculares. Tanto los quistes radiculares inflamatorios como los granulomas periapicales, representarían dos estados diferentes dentro del desarrollo del mismo proceso inflamatorio, caracterizado por

la infiltración de los tejidos apicales por leucocitos inflamatorios. Como consecuencia del desarrollo de un granuloma apical, el proceso inflamatorio puede inducir la proliferación de los restos epiteliales de Malassez en el periodonto, y conducir a la formación de un quiste radicular inflamatorio⁽⁴⁾.

Los infiltrados perirradiculares están compuestos principalmente por macrófagos, linfocitos B y T, plasmocitos^(1,5) y polimorfonucleares neutrófilos (PMN)⁽⁶⁾. La composición relativa de estos infiltrados celulares es controversial, sin embargo, los macrófagos presentan un papel central en este proceso⁽⁷⁾, pues representan la primera línea defensiva en la inflamación crónica, desempeñando numerosas funciones frente a la infección bacteriana del canal radicular; como fagocitosis, activación de la respuesta inmune celular y humoral, y la producción de mediadores inflamatorios como prostaglandinas, especies reactivas del nitrógeno y oxígeno, enzimas y citoquinas. De este modo, estas células median el recambio y destrucción de la matriz extracelular periodontal e inducen la secreción de importantes citoquinas pro-reabsorptivas del tejido óseo, como IL-1 β y TNF- α y de metaloproteinasas de matriz extracelular (MMPs)^(1,8).

En la actualidad, se sabe que las MMPs son clave en la destrucción tisular descontrolada en numerosas enfermedades inflamatorias^(9,10) que incluyen la artritis reumatoidea, enfermedades de

1. Profesor Asistente, Departamento de Patología, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Chile.

2. Cirujano Dentista, HOSCAR, Hospital de Carabineros de Chile. Chile.

3. Instructor, Área de Endodoncia, Departamento de Odontología Conservadora, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Chile.

4. Laboratorio de Biología Periodontal, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Chile.

la piel y también enfermedades orales, como la periodontitis crónica y periimplantitis, entre otras⁽¹¹⁾. A continuación revisaremos el posible rol de las MMPs en la destrucción de los tejidos periodontales y particularmente del periodonto apical durante la periodontitis apical crónica.

MMPs

Las MMPs son una familia de endopeptidasas estructuralmente similares y genéticamente distintas que en conjunto degradan los componentes de la matriz extracelular y membranas basales^(12,13). Son producidas por numerosos tipos celulares que incluyen leucocitos, células mesenquimales, queratinocitos y células endoteliales⁽¹⁴⁾. Estudios recientes demuestran que el papel de las MMPs no está limitado sólo a la hidrólisis de matriz extracelular, debido a que existe una gran diversidad de sustratos adicionales que son blanco de la actividad de las MMPs, como receptores de factores de crecimiento (GFR), moléculas de adhesión celular, quimioquinas, citoquinas, ligandos apoptóticos y factores angiogénicos, entre otros⁽¹⁵⁾.

Según su homología estructural y especificidad por sustrato se clasifican en distintos grupos. De este modo, la mayoría de las MMPs se organizan alrededor de un dominio catalítico altamente conservado. Adyacente al dominio catalítico se incorpora un propéptido, necesario para mantener la latencia enzimática, un péptido señal que dirige su síntesis y un dominio hemopexina C-terminal que contribuye a la especificidad de sustrato y a las interacciones con sus inhibidores endógenos. Esta estructura básica se presenta en las collagenasas humanas (MMP-1, -8 y -13), estromelisin (MMP-3 y -10) y cuatro MMPs adicionales con características estructurales peculiares (MMP-12, -19, -20 y -27). Además de esta conformación básica, existen dos matrilisinas (MMP-7 y -26), dos gelatinasas (MMP-2, MMP-9), seis tipos de MMPs de membrana plasmática (MT1-, MT2-, MT3-, MT4- y MT5- y MT6-MMP) y otras MMPs que no clasifican en los grupos anteriores, como las MMP-11, -21, -28 y MT-MMPs -23A y -23B^(15,10,16).

La función de las MMPs está estrictamente regulada en los tejidos, en los niveles de transcripción enzimática, activación pro enzimática; y a nivel de inhibición de su actividad, principalmente por sus inhibidores tisulares, TIMPs. Conjuntamente, estos mecanismos confinan la actividad proteolítica a aquellos sitios y circunstancias en que ésta es biológicamente necesaria⁽¹⁵⁾. Además de la actividad inhibitoria sobre las MMPs, los TIMPs desempeñan otras numerosas funciones, como la inhibición de la invasión celular *in vitro*, e inhibición de la tumorigénesis, metástasis y angiogénesis, *in vivo*⁽¹⁷⁾. De este modo, la compleja actividad de las MMPs está controlada por el delicado balance entre la expresión y activación de las MMPs y sus inhibidores⁽¹³⁾; y por tanto, la disrupción de este balance puede resultar en el desarrollo de procesos patológicos⁽¹⁸⁾.

PATOGENIA DE LA PERIODONTITIS APICAL CRÓNICA

Los colágenos tipo I y III corresponden a los componentes principales de la matriz extracelular del tejido periodontal y hueso alveolar⁽¹⁹⁾. Las collagenasas intersticiales derivadas de las células del hospedero, correspondientes a las MMPs -1, -8 y -13, rompen la molécula de colágeno nativo en un sitio único, dejando fragmentos característicos de $\frac{3}{4}$ y $\frac{1}{4}$ ^(20,14). Una vez que el colágeno es degradado inicialmente por las collagenasas, se desnatura a temperatura corporal y es hidrolizado por las gelatinasas (MMPs -2 y -9) y otras proteasas inespecíficas del tejido. Estas MMPs se han asociado previamente con destrucción periodontal en otras condiciones patológicas como periodontitis crónica y periimplantitis^(21,22). Entre éstas, las MMPs predominantes en el tejido gingival enfermo y fluido crevicular gingival (FCG) son producidas mayoritariamente por PMN (MMP-8 y MMP-9), por el tejido óseo, células inflamatorias (MMP-13) y en menor proporción, por los fibroblastos (MMP-1 y MMP-8)^(20,23,24,25). Adicionalmente, los leucocitos y fibroblastos residentes del tejido periodontal secretan MMPs -1, -2, -3, -8 -9 y -13^(5,26,27,28).

Las lesiones periapicales, de modo similar a la periodontitis crónica se caracterizan por la destrucción del hueso alveolar como consecuencia de la infección bacteriana y en ambas se propone que la reabsorción ósea inflamatoria podría estar sobre regulada *in vivo* por mediadores liberados por linfocitos T helper Th1 e inhibida por la respuesta Th2⁽¹⁾. Entre los linfocitos T, existiría un predominio de células TCD4+ que participarían directamente en la destrucción ósea produciendo citoquinas inflamatorias como el Ligando del Receptor activador del factor nuclear NFκB (RANKL), un factor clave en la diferenciación y activación de los osteoclastos⁽¹⁾. Estudios previos han demostrado incrementos significativos en los niveles de RNAm de RANKL en granulomas periapicales, en comparación con ligamento periodontal sano. Adicionalmente, estos autores encontraron una relación entre el aumento de la expresión de RANKL y la actividad monocítica en granulomas periapicales, enfatizando la potencial importancia de las células mononucleares en la patogenia de la periodontitis apical crónica⁽⁴⁾. De

este modo, los macrófagos, se consideran importantes reguladores del recambio de matriz extracelular, mediante la secreción de citoquinas implicadas en la reabsorción ósea como interleuquinas 1- α y β (IL-1 α , IL-1 β) y de MMPs, entre las que se incluyen las MMPs -2, -9 y -13^(5,1,29).

MMPs EN REABSORCIÓN ÓSEA INFLAMATORIA

El fenómeno característico de los granulomas y quistes periapicales corresponde a la destrucción del hueso alveolar como consecuencia de la infiltración leucocitaria frente a la infección bacteriana^(1,5). Estudios previos han propuesto que las MMPs -2, -9 y -13 desempeñan un papel preponderante, tanto en la iniciación como en la progresión de la reabsorción ósea inflamatoria^(23,27,30-32,28). En condiciones inflamatorias, los mediadores osteolíticos, como la IL-1 y prostaglandina E₂ (PGE₂) inducen la expresión de RANKL y MMPs por los osteoblastos y osteoclastos⁽³¹⁾. Adicionalmente, se piensa que la actividad de la MMP-9 puede actuar sobre el reclutamiento y la migración de los precursores osteoclastos hacia el sitio de reabsorción ósea⁽³³⁾.

Los fibroblastos del ligamento periodontal (PDL) presentan un fenotipo de tipo osteoblástico⁽³⁴⁾ y son capaces de diferenciarse a células osteogénicas y cementogénicas⁽³⁵⁾. Se piensa que los fibroblastos del PDL no sólo participan en la mantención y recambio fisiológico del ligamento periodontal, sino también en los procesos patológicos destructivos propios de la periodontitis crónica marginal y apical. De este modo, las células del PDL podrían actuar como células accesorias de la respuesta inmune y sintetizar enzimas y citoquinas en respuesta a los lipopolisacáridos (LPS) bacterianos o a citoquinas inflamatorias^(35,36,37). A su vez, estos productos pueden modificar el fenotipo celular del PDL y su función. Las citoquinas proinflamatorias factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) e IL-1 β , así como las MMPs -1 y -13⁽³⁸⁾ secretadas por las células del PDL, son capaces de regular en forma negativa el fenotipo osteogénico en osteoblastos, líneas celulares de osteosarcoma y células del PDL⁽³⁹⁾. Todos estos mecanismos pueden formar parte integral de la defensa del hospedero y en la regeneración del tejido perirradicular durante la infección⁽³⁵⁾.

MMPs EN PULPITIS Y PERIODONTITIS APICAL

El rol de las MMPs en las lesiones periapicales se remonta a sus primeros orígenes, durante la formación de la lesión cariosa. Estudios previos⁽³⁹⁾ sugieren que las MMPs -8, -2 y -9 estarían involucradas en la degradación de la matriz dentinaria. También se ha demostrado la presencia de las formas activas y proformas de estas MMPs en lesiones dentinarias humanas; debido a que las formas activas se degradan rápidamente, su presencia en las lesiones cariosas implica activación *in situ*, sugiriendo la ocurrencia de ciclos de desmineralización-activación de MMPs y degradación de matriz dentinaria secuencial en la patogenia de la caries dental⁽¹³⁾, en forma similar a los procesos que ocurrirían durante la reabsorción del tejido óseo. Por otro lado, estudios de inhibición de MMPs *in vivo* han demostrado reducción, tanto de la progresión de las lesiones cariosas como óseas⁽⁴¹⁾.

Como en otros tejidos inflamados, la presencia de las MMPs se ha demostrado en pulpitis y periodontitis apical^(26,42). Se han descrito aumentos significativos en la expresión de MMPs -2, -3, -8 y -9 en pulpas inflamadas en relación con las sanas, producidas tanto por células residentes como inflamatorias; mientras que en granulomas periapicales se ha visto expresión de MMP-2 por plasmocitos, linfocitos y macrófagos^(5,26,27). Leonardi et al (2005), estudiaron la expresión de MMP-13 en granulomas periapicales con y sin epitelio, encontrando una marcada sobreexpresión de la enzima en los primeros y sugieren que la MMP-13 podría estar involucrada en la transformación de granulomas en quistes radiculares. Se ha propuesto que, entre los mecanismos moleculares de expansión de los quistes radiculares, estaría involucrado un desbalance entre MMPs y sus inhibidores fisiológicos TIMPs⁽²⁷⁾. Collagenasas (MMPs -1 y -8) y gelatinasas (MMPs -2 y -9) se han identificado previamente en membranas y extractos de fluido quístico⁽²⁹⁾. Adicionalmente, se ha demostrado la expresión de MMP-2 en linfocitos, plasmocitos y macrófagos en granulomas apicales^(5,42).

Por otro lado, análisis de niveles de MMP-8 en exudados intracanal han demostrado su asociación con la presencia de inflamación periapical; de este modo, los niveles de MMP-8 en exudados periapicales se reducen conjuntamente con la inflamación, mientras que en casos de inflamación sostenida, los niveles de MMP-8 permanecen elevados⁽²⁶⁾. Si consideramos la LPA como una reacción inflamatoria defensiva orientada a prevenir la diseminación de la infección a través del tejido óseo, el potencial rol de las MMPs en el aumento del tamaño de la lesión y/o su crecimiento acelerado sugiere que las MMPs tendrían un rol antiinfeccioso y/o antiinflamatorio en la patogenia de las lesiones pulpares y periapicales⁽⁴³⁾.

A pesar de que las MMPs tradicionalmente han desempeñado un rol destructivo en las enfermedades inflamatorias, la evidencia reciente propone un nuevo enfoque atribuyéndoles, por el contrario, un rol

protector frente a la destrucción perirradicular. En un estudio previo⁽⁴³⁾ se indujeron lesiones apicales experimentales en ratones. Aquellos que fueron pretratados con un inhibidor de MMPs desarrollaron lesiones osteolíticas de mayor tamaño que los controles no tratados. De modo similar, otros estudios demostraron mayor pérdida ósea en ratones MMP-8-/- en comparación con los tipos silvestres en periodontitis experimental inducida por *P. gingivalis*⁽⁴⁴⁾ y por LPS⁽⁴⁵⁾, sugiriendo que las MMPs podrían ejercer un rol protector frente a los procesos osteolíticos.

Si bien el rol histórico de las MMPs está representado por la degradación directa de matriz extracelular tisular, durante los últimos años se ha ido descubriendo un amplio degradoma de sustratos bioactivos susceptibles de proteólisis por estas MMPs, que incluyen citoquinas, quimioquinas, receptores de factores de crecimiento y otras MMPs. Estos hallazgos, ligan la actividad de las MMPs con la modulación de la respuesta inmunoinflamatoria y la activación de complejas cascadas proteolíticas⁽⁴⁶⁾. Específicamente, las MMPs -9, -13 y -2 se encuentran estrechamente relacionadas mediante cascadas de activación mutua; una vez activas, pueden actuar sobre mediadores inflamatorios producidos por leucocitos y osteoblastos⁽⁴⁷⁾, como proTNF- α , proIL-1 β y Factor de Crecimiento Vascular Endotelial (VEGF)^(48,49), regulando la reabsorción ósea en forma indirecta, mediante la inducción de la expresión de RANKL por TNF- α , y directamente, promoviendo la diferenciación y activación osteoclástica⁽³⁾. Adicionalmente, las MMPs pueden inactivar antiproteasas, que incluyen el inhibidor general α -2 macroglobulina y el inhibidor de proteasas α -1⁽¹⁵⁾. De este modo, el procesamiento de sustratos bioactivos por las MMPs podría representar un importante mecanismo de amplificación y/o modulación de la respuesta inflamato-

ria durante la periodontitis apical.

En síntesis, las MMPs estarían involucradas en la patogenia de las lesiones periapicales; sin embargo, si desempeñan un papel activo o protector en la destrucción del tejido periapical, o bien modulador de la respuesta inflamatoria, es una interrogante que sólo se resolverá mediante el desarrollo de nuevos estudios. Un mayor conocimiento de los mecanismos patológicos involucrados en la etiopatogenia de las lesiones periapicales contribuirá al desarrollo de nuevos métodos de diagnóstico y monitoreo a corto plazo de la respuesta al tratamiento endodóntico.

Recientemente, reportamos por primera vez la presencia de cambios en la composición del fluido crevicular gingival (GCF) en dientes con LPAs, representados por incrementos en los niveles de MMP-9 en relación con dientes sanos⁽²⁸⁾; mientras que las formas activas y zimogénicas de la MMP-2 se identificaron sólo en los enfermos; adicionalmente, se observaron bandas compatibles con las formas activas de la MMP-13. Nuestro estudio condujo que el análisis de la actividad de las MMPs -2, -9 y -13 en el FCG puede representar un método simple, eficiente y no invasivo que refleje la dinámica de los tejidos periodontales periapicales y de este modo, los estados de salud-enfermedad periapical. Asimismo, el desarrollo de nuevos estudios que dilucidan el papel de las MMPs en la periodontitis apical crónica se verá altamente beneficiado por la introducción de nuevos métodos de análisis y monitoreo de las LPAs, contribuyendo al futuro desarrollo de nuevos enfoques en el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de esta patología.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Vemal R, Dezerega A, Dutzan N, et al. RANKL in human periapical granuloma: possible involvement in periapical bone destruction. *Oral Dis.* 2006 May;12(3):283-9.
- Nair PN. Pathogenesis of apical periodontitis and the causes of endodontic failures. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004;15(6):348-81.
- Ortega A, Farina V, Gallardo A, Espinoza I, Acosta S. Nonendodontic periapical lesions: a retrospective study in Chile. *Int Endod J.* 2007 May;40(5):386-90.
- Torabinejad M, Bakland LK. Immunopathogenesis of chronic periapical lesions. A review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1978 Nov;46(5):685-99.
- Su Yung S J-L, Seung-Ho B, Sung-Sam L. Tissue levels of matrix metalloproteinases in pulps and periapical lesions. *J Endodontol.* 2002;28(4):313-5.
- Minczykowski A, Woszczyk M, Szczepanik A, Lewandowski L, Wysocki H. Hydrogen peroxide and superoxide anion production by polymorphonuclear neutrophils in patients with chronic periapical granuloma, before and after surgical treatment. *Clin Oral Investig.* 2001 Mar;5(1):6-10.
- Liapatas S, Nakou M, Rontogianni D. Inflammatory infiltrate of chronic periradicular lesions: an immunohistochemical study. *Int Endod J.* 2003 Jul;36(7):464-71.
- Rodini CO, Lara VS. Study of the expression of CD68+ macrophages and CD8+ T cells in human granulomas and periapical cysts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2001 Aug;92(2):221-7.
- Mitt JD, Werb Z. Regulation of matrix biology by matrix metalloproteinases. *Curr Opin Cell Biol.* 2004 Oct;16(5):558-64.
- Reynolds JJ, Meikle MC. Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis. *Periodontol 2000.* 1997 Jun;14:144-57.
- Ingman T, Tervahartiala T, Ding Y, et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. *J Clin Periodontol.* 1996 Dec;23(12):1127-32.
- Uitto VJ, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontol 2000.* 2003;31:77-104.
- Sorsa T, Tjaderhane L, Salo T. Matrix metalloproteinases (MMPs) in oral diseases. *Oral Dis.* 2004 Nov;10(6):311-8.
- Ryan ME, Golub LM. Modulation of matrix metalloproteinase activities in periodontitis as a treatment strategy. *Periodontol 2000.* 2000 Oct;24:226-38.
- Folgueras AR, Pendas AM, Sanchez LM, Lopez-Otin C. Matrix metalloproteinases in cancer: from new functions to improved inhibition strategies. *Int J Dev Biol.* 2004;48(56):411-24.
- Dahan M, Nawrocki B, Elkaim R, et al. Expression of matrix metalloproteinases in healthy and diseased human gingiva. *J Clin Periodontol.* 2001 Feb;28(2):128-36.
- Nagase H, Woessner JF, Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem.* 1999 Jul 30;274(31):21491-4.
- Ejeil AL, Igondo-Tchen S, Ghomrasseni S, Pellat B, Godeau G, Gogly B. Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in healthy and diseased human gingiva. *J Periodontol.* 2003 Feb;74(2):188-95.
- Ma J, Kitti U, Teronen O, et al. Collagenases in different categories of peri-implant vertical bone loss. *J Dent Res.* 2000 Nov;79(11):1870-3.
- Kiili M, Cox SW, Chen HY, et al. Collagenase-2 (MMP-8) and collagenase-3 (MMP-13) in adult periodontitis: molecular forms and levels in gingival crevicular fluid and immunolocalisation in gingival tissue. *J Clin Periodontol.* 2002 Mar;29(3):224-32.
- Chung L, Dinakarandian D, Yoshida N, et al. Collagenase unwinds triple-helical collagen prior to peptide bond hydrolysis. *EMBO J.* 2004 Aug 4;23(15):3020-30.
- Pozo P, Valenzuela MA, Melej C, et al. Longitudinal analysis of metalloproteinases, tissue inhibitors of metalloproteinases and clinical parameters in gingival crevicular fluid from periodontitis-affected patients. *J Periodontol Res.* 2005 Jun;40(3):199-207.
- Hernandez M, Valenzuela MA, Lopez-Otin C, et al. Matrix metalloproteinase-13 is highly expressed in destructive periodontal disease activity. *J Periodontol.* 2006 Nov;77(11):1863-70.
- Loos BG, Tjoa S. Host-derived diagnostic markers for periodontitis: do they exist in gingival crevice fluid? *Periodontol 2000.* 2005;39:53-72.
- Salvi GE, Lang NP. Host response modulation in the management of periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 2005;32 Suppl 6:108-29.
- Wahlgren ST, Teronen O, Luoto H, Sorsa T, Tjaderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in pulpal and periapical inflammation and periapical root-canal exudates. *Int Endod J.* 2002;35:897-904.
- Leonardi R, Caltabiano R, Loreto C. Collagenase-3 (MMP-13) is expressed in periapical lesions: an immunohistochemical study. *Int Endod J.* 2005 May;38(5):297-301.
- Belmar MJ, Pabst C, Martinez B, Hernandez M. Gelatinolytic activity in gingival crevicular fluid from teeth with periapical lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008 Jun;105(6):801-6.
- Wahlgren J, Salo T, Teronen O, Luoto H, Sorsa T, Tjaderhane L. Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in pulpal and periapical inflammation and periapical root canal exudates. *Int Endod J.* 2002 Nov;35(11):897-904.
- Nishikawa M, Yamaguchi Y, Yoshitake K, Saeki Y. Effects of TNFalpha and prostaglandin E2 on the expression of MMPs in human periodontal

ligament fibroblasts. *J Periodontol Res.* 2002 Jun;37(3):167-76.

31. Oshiba T MC, Inada M, Ito A. Role of RANKL-induced osteoclast formation and MMP-dependent matrix degradation in bone destruction by breast cancer metastasis. *Br J Cancer.* 2003;88:1318-26.

32. Hernandez M, Martinez B, Tejerina JM, Valenzuela MA, Gamonal J. MMP-13 and TIMP-1 determinations in progressive chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2007 Sep;34(9):729-35.

33. Yu X, Collin-Osdoby P, Osdoby P. SDF-1 increases recruitment of osteoclast precursors by upregulation of matrix metalloproteinase-9 activity. *Connect Tissue Res.* 2003;44 Suppl 1:79-84.

34. Carnes DL, Maeder CL, Graves DT. Cells with osteoblastic phenotypes can be explanted from human gingiva and periodontal ligament. *J Periodontol.* 1997 Jul;68(7):701-7.

35. Quintero JC, Piesco NP, Langkamp HH, Bowen L, Agarwal S. LPS responsiveness in periodontal ligament cells is regulated by tumor necrosis factor-alpha. *J Dent Res.* 1995 Nov;74(11):1802-11.

36. Yamaji Y, Kubota T, Sasaguri K, et al. Inflammatory cytokine gene expression in human periodontal ligament fibroblasts stimulated with bacterial lipopolysaccharides. *Infect Immun.* 1995 Sep;63(9):3576-81.

37. Agarwal S, Chandra CS, Piesco NP, Langkamp HH, Bowen L, Baran C. Regulation of periodontal ligament cell functions by interleukin-1beta. *Infect Immun.* 1998 Mar;66(3):932-7.

38. Hayami T, Kapila YL, Kapila S. MMP-1 (collagenase-1) and MMP-13 (collagenase-3) differentially regulate markers of osteoblastic differentiation in osteogenic cells. *Matrix Biol.* 2008 Oct;27(8):682-92.

39. Tjaderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Lamas M, Salo T. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res.* 1998 Aug;77(8):1622-9.

40. Sukala M, Wahlgren J, Lamas M, et al. The effects of MMP inhibitors on human salivary MMP activity and caries progression in rats. *J Dent Res.* 2001 Jun;80(6):1545-9.

41. Rifas L, Arackal S. T cells regulate the expression of matrix metalloproteinase in human osteoblasts via a dual mitogen-activated protein kinase mechanism. *Arthritis Rheum.* 2003 Apr;48(4):993-1001.

42. Wahlgren J, Maisi P, Sorsa T, et al. Expression and induction of collagenases (MMP-8 and -13) in plasma cells associated with bone-destructive lesions. *J Pathol.* 2001 Jun;194(2):217-24.

43. Tjaderhane L, Hotakainen T, Kinnunen S, Ahonen M, Salo T. The effect of chemical inhibition of matrix metalloproteinases on the size of experimentally induced apical periodontitis. *Int Endod J.* 2007 Apr;40(4):282-9.

44. Heidi Kuula TS, Emma Pirilä, Anita M. Tuomänen, Matti Jauhiainen, Veli-Jukka Uitto, Leo Tjäderhane, Pirkko J. Pussinen and Timo Sorsa. Local and Systemic Responses in Matrix Metalloproteinase 8-Deficient Mice during Porphyromonas gingivalis-Induced Periodontitis. *Infect Immun.* 2009;77(2):1-10.

45. Owen CA, Hu Z, Lopez-Otin C, Shapiro SD. Membrane-bound matrix metalloproteinase-8 on activated polymorphonuclear cells is a potent, tissue inhibitor of metalloproteinase-resistant collagenase and serpinase. *J Immunol.* 2004 Jun 15;172(12):7791-803.

46. McQuibban GA, Gong JH, Wong JP, Wallace JL, Clark-Lewis I, Overall CM. Matrix metalloproteinase processing of monocyte chemoattractant proteins generates CC chemokine receptor antagonists with anti-inflammatory properties in vivo. *Blood.* 2002 Aug 15;100(4):1160-7.

47. Tang CH, Chuang JY, Fong YC, Maa MC, Way TD, Hung CH. Bone-derived SDF-1 stimulates IL-6 release via CXCR4, ERK and NF-kappaB pathways and promotes osteoclastogenesis in human oral cancer cells. *Carcinogenesis.* 2008 Aug;29(8):1483-92.

48. Sipola A, Nelo K, Hautala T, Ilvesaro J, Tuukkanen J. Endostatin inhibits VEGF-A-induced osteoclastic bone resorption in vitro. *BMC Musculoskelet Disord.* 2006;7:56.

49. Havens AM, Chiu E, Taba M, et al. Stromal-derived factor-1alpha (CXCL12) levels increase in periodontal disease. *J Periodontol.* 2008 May;79(5):845-53.

CORRESPONDENCIA AUTOR

Marcela Hernández Ríos.

Laboratorio de Biología Periodontal, Departamento de Patología, Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Olivos 943 – Independencia. Santiago, Chile.

Fono: (56-2) 978 18 33.

Fax: (56-2) 978 18 39.

mhernandezrios@gmail.com

Trabajo recibido el 16/01/2009.

Aprobado para su publicación el 04/03/2009.