

ALTERAÇÕES DAS ENZIMAS LISOSSOMAIS BETA HEXOSAMINIDASE, FOSFATASE ÁCIDA E ARIL SULFATASE NOS DIFERENTES ESTÁGIOS DA DOENÇA PERIODONTAL INFLAMATÓRIA

José Ricardo KINA*
Eulázio Mikio TAGA**
Euloir PASSANEZI***

- RESUMO: Foi analisado nos diferentes graus evolutivos da doença periodontal inflamatória em humanos, o nível de enzimas lisossomais fosfatase ácida, beta hexosaminidase e aril sulfatase. De acordo com a análise dos resultados obtidos, nas condições em que foi realizado o estudo, pôde-se chegar às seguintes conclusões: as três enzimas aumentam de nível durante a doença periodontal inflamatória; a beta hexosaminidase mostrou uma tendência acentuada à elevação de acordo com a progressão da doença periodontal inflamatória; a aril sulfatase mostrou uma tendência a aumentar o nível principalmente nas fases incipientes da gengivite.
- UNITERMOS: Enzimas; doença periodontal; fosfatase ácida; beta hexosaminidase; aril sulfatase.

Introdução

A etiologia e patogênese da doença periodontal inflamatória no homem está intimamente associada ao acúmulo de bactérias na margem gengival^{15,26,46}. Entretanto, não está claro como a placa bacteriana realmente promove a destruição do tecido periodontal no hospedeiro.

Evidências indicam que a presença de placa bacteriana, seus constituintes, substâncias por ela elaborada e produtos do seu metabolismo, induzem um processo inflamatório que se inicia no tecido conjuntivo adjacente à margem gengival⁴.

* Departamento de Diagnóstico e Cirurgia da Faculdade de Odontologia – UNESP – 16015 – Araçatuba – SP.

** Departamento de Bioquímica da Faculdade de Odontologia – USP – 17033 – Bauru – SP.

*** Departamento de Periodontia da Faculdade de Odontologia – USP – 17033 – Bauru – SP.

Dentre os mecanismos que compõem este processo inflamatório, alguns previnem a difusão de microorganismos nos tecidos, mas, por outro lado, provocam alterações teciduais locais enquanto a placa bacteriana estiver presente^{1,2,3,10,27,28,37,44,45}.

Estas alterações teciduais, que ocorrem no decorrer da doença periodontal inflamatória, têm sido associadas em grande parte à atividade enzimática que pode ter origem a partir de bactérias⁴¹, células de defesa^{8,13,17,21,22,32,41,47}, células epiteliais^{7,12,21,24,39} e fibroblastos^{12,22,24}.

Por estes fatores, estabelecer uma relação específica entre um marcador bioquímico nos fluidos e tecidos bucais, e o diagnóstico e a evolução da doença periodontal inflamatória, tem sido tema de intensa investigação^{6,8,9,14,15,18,20}.

É objetivo deste estudo dosar como marcadores bioquímicos as enzimas lisossomais fosfatase ácida, beta hexosaminidase e aril sulfatase, em extratos de tecido gengival, além de verificar uma possível correlação do nível destas enzimas lisossomais com os diferentes graus evolutivos da doença periodontal inflamatória.

Material e método

1. Seleção dos pacientes

Foram selecionados 60 pacientes portadores de doença periodontal inflamatória não tratada e 10 pacientes saudáveis do sexo masculino, com idades entre 14 e 51 anos.

Através de exame clínico e radiográfico, os pacientes com gengiva normal (N) e com gengivite (GI, GII, GIII) foram classificados com base no índice de Loe & Silness²⁵. Para classificar os pacientes com periodontite (PI, PII, PIII), utilizou-se o índice de Ramfjord³⁴.

Após determinado o índice da doença periodontal inflamatória, foi possível classificar os 70 pacientes em 7 grupos com 10 indivíduos, nos quais realizaram-se biópsias, utilizando-se a técnica de gengivoplastia para os pacientes com gengiva normal e com gengivite. Para os pacientes que apresentavam periodontite, utilizou-se a técnica de retalho de Widman modificado³⁵.

2. Obtenção do extrato de tecido gengival

Cada amostra de tecido gengival foi cortada e homogeneizada com tampão acetato 0,3M, EDTA 1 mM pH 5,0, numa concentração final de 10% (peso/volume), em um homogeneizador de tecido nº AA-40.

O homogenizado foi centrifugado em uma centrífuga de mesa Sorvall modelo NSE a 3000 RPM durante 10 minutos, a 4°C. As amostras foram mantidas em gelo moído.

Após isto, realizou-se um estudo do tempo de incubação para a dosagem da atividade das enzimas, utilizando-se para cada uma 0,1 ml do sobrenadante, imediatamente após a centrifugação.

3. Dosagem da atividade da beta hexosaminidase⁴³

A atividade da beta hexosaminidase foi determinada a 37°C, usando-se 0,5 ml de p-nitrofenil-N-Acetil-Beta-D-glucosaminidase 3 mM em tampão acetato 100 mM pH 4,5. Após incubação por 30 minutos, a reação foi paralisada pela adição de 1,0 ml de NaOH 1,0N.

A densidade ótica foi lida a 400 nm. A unidade de atividade enzimática definiu-se como 1 micro mol de p-nitrofenol liberado por minuto, sendo o coeficiente de extinção molar do p-nitrofenol $1,8 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A atividade específica definiu-se como número de unidades enzimáticas/mg de tecido.

4. Dosagem da atividade da fosfatase ácida⁴²

A atividade da fosfatase ácida foi determinada a 37°C, usando-se 1,0 ml de p-nitrofenil-fosfato 5 mM em tampão acetato 100 mM pH 5,0. Após incubação por 10 minutos, a reação foi paralisada pela adição de 1,0 ml de NaOH 1,0N. A densidade ótica foi lida a 400 nm. Uma unidade de atividade enzimática definiu-se como 1 micro mol de p-nitrofenol liberada por minuto. O coeficiente de extinção molar usado foi $1,8 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. A atividade específica foi definida como número de unidades enzimáticas/mg de tecido.

5. Dosagem da atividade da aril sulfatase⁴⁸

A atividade da aril sulfatase foi determinada a 37°C, usando-se 0,5 ml de p-nitrocatecol-sulfato 5 mM em tampão acetato 100 mM pH 5,0. Após incubação por 30 minutos, a reação foi paralisada pela adição de 1,0 ml de NaOH 1,0N. A densidade ótica foi lida a 515 nm. A unidade de atividade enzimática definiu-se como a quantidade de enzima que hidrolisa 1 micro mol de substrato/minuto e a atividade específica foi definida como o número de unidades enzimáticas/mg de tecido.

O coeficiente de extinção molar do p-nitrocatecol é $1,24 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Resultado

As Tabelas 1, 2 e 3 demonstram os resultados das quantificações das três enzimas estudadas em unidades enzimáticas por mg de tecido, bem como as respectivas médias e desvios padrão para cada um dos 7 grupos estudados.

Os Gráficos 1, 2 e 3 representam as médias aritméticas dos resultados das quantificações enzimáticas de cada grupo para as três enzimas estudadas.

Tabela 1 – Médias e desvios padrão das concentrações de beta hexosaminidase em unidades enzimáticas/mg de tecido

Amostras	N	GI	GII	GIII	PI	PII	PIII
1	0,52	0,64	0,65	1,31	0,96	1,10	1,41
2	0,30	0,85	0,88	1,48	0,70	1,51	1,19
3	0,73	0,91	1,42	1,49	0,51	1,20	0,63
4	0,55	0,79	1,03	1,57	1,73	1,01	3,37
5	0,35	0,39	0,41	1,30	1,49	1,17	2,55
6	0,56	0,25	0,52	1,95	1,53	1,36	1,88
7	0,83	0,46	1,54	1,86	0,94	2,00	3,41
8	0,52	1,15	0,75	1,06	0,71	1,67	2,59
9	0,78	0,66	0,57	1,46	1,38	1,36	1,10
10	0,61	0,31	0,82	1,96	0,44	1,50	1,63
Média	0,57	0,64	0,85	1,54	1,03	1,38	1,97
Desvio padrão	0,17	0,29	0,37	0,29	0,46	0,29	0,96

N = normal

GI = gengivite grau I

GII = gengivite grau II

GIII = gengivite grau III

PI = periodontite grau I

PII = periodontite grau II

PIII = periodontite grau III

Tabela 2 – Médias e desvios padrão das concentrações de fosfatase ácida em unidades enzimáticas/mg de tecido

Amostras	N	GI	GII	GIII	PI	PII	PIII
1	8,43	6,36	5,53	17,53	9,89	6,06	8,33
2	6,37	5,25	6,65	16,95	3,37	14,21	12,72
3	12,25	9,49	12,25	17,04	6,19	10,47	14,55
4	8,06	7,24	9,97	17,21	15,97	5,53	15,64
5	6,33	2,00	4,29	12,51	15,63	15,15	14,57
6	7,75	2,67	6,32	26,29	15,86	6,81	12,38
7	13,88	3,90	13,87	9,97	2,98	9,76	8,95
8	5,82	15,68	7,24	9,37	5,41	3,08	8,17
9	5,96	11,70	5,67	7,26	8,87	3,28	8,24
10	3,86	4,36	10,45	7,89	5,10	4,36	6,97
Média	7,87	6,86	8,22	14,20	8,92	7,87	11,05
Desvio padrão	3,05	4,31	3,20	5,90	5,21	4,34	3,24

N = normal

GI = gengivite grau I

GII = gengivite grau II

GIII = gengivite grau III

PI = periodontite grau I

PII = periodontite grau II

PIII = periodontite grau III

Tabela 3 – Médias e desvios padrão das concentrações de aril sulfatase em unidades enzimáticas/mg de tecido

Amostras	N	GI	GII	GIII	PI	PII	PIII
1	0,17	0,34	0,18	1,51	0,52	0,40	0,06
2	0,82	3,16	0,34	1,68	0,78	2,31	1,39
3	0,51	0,99	1,59	1,30	0,29	0,39	1,97
4	1,44	0,42	1,95	0,59	0,79	0,29	2,46
5	1,25	1,25	2,06	2,05	0,60	1,69	1,27
6	1,74	1,88	2,27	1,77	0,63	2,59	0,87
7	1,41	1,94	0,81	0,49	0,17	0,69	0,95
8	0,02	2,73	0,37	0,17	0,16	0,12	0,76
9	0,16	2,11	1,06	0,32	0,35	0,11	1,26
10	0,02	2,68	1,42	0,60	0,09	0,17	0,32
Média	0,75	1,75	1,20	1,04	0,43	0,87	1,13
Desvio padrão	0,66	0,97	0,76	0,68	0,26	0,95	0,71

N = normal

GI = gengivite grau I

GII = gengivite grau II

GIII = gengivite grau III

PI = periodontite grau I

PII = periodontite grau II

PIII = periodontite grau III

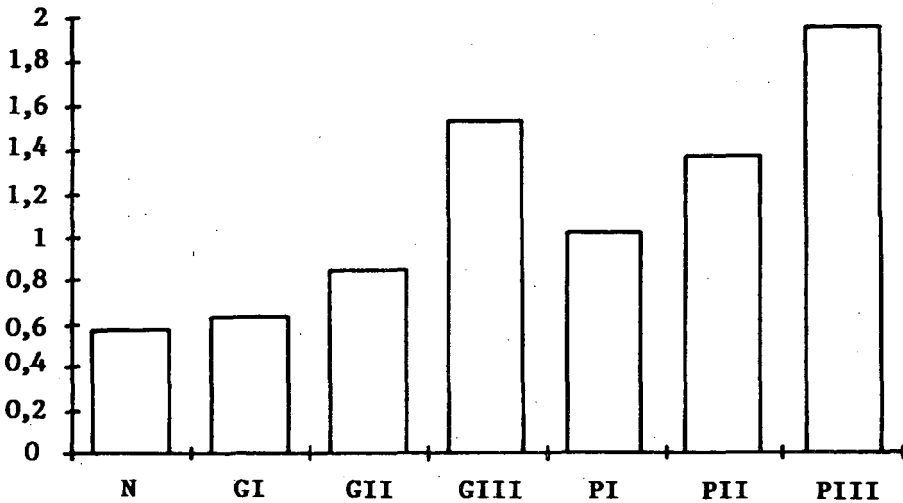


GRÁFICO 1 – Representação gráfica das médias aritméticas da beta hexosaminidase, dadas em unidades enzimáticas/mg de tecido.

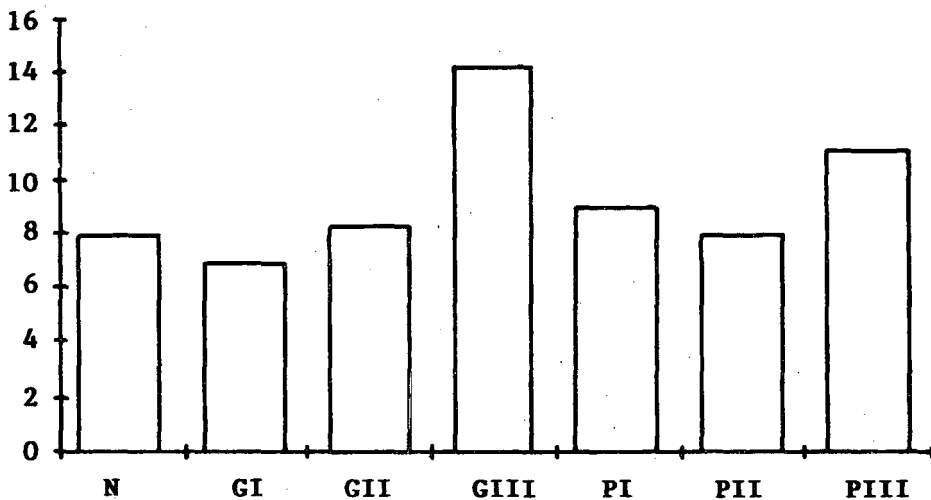


GRÁFICO 2 - Representação gráfica das médias aritméticas da fosfatase ácida, dadas em unidades enzimáticas/mg de tecido.

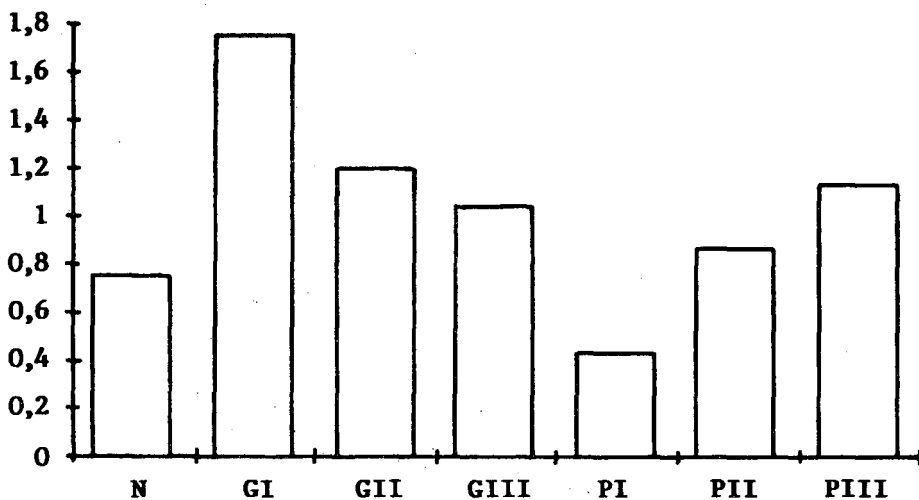


GRÁFICO 3 - Representação gráfica das médias aritméticas da aril sulfatase, dadas em unidades enzimáticas/mg de tecido.

Discussão

Um método bioquímico que confirmasse precocemente o estágio da doença periodontal inflamatória, auxiliaria bastante o seu diagnóstico e tratamento, permitindo, principalmente, o estabelecimento de medidas preventivas em níveis mais baixos.

Para esta tentativa, as enzimas lisossomais beta hexosaminidase, fosfatase ácida e aril sulfatase foram analisadas em nosso estudo.

Pela análise dos resultados da beta hexosaminidase, observamos que esta enzima mostra uma tendência acentuada às elevações de acordo com a progressão da doença periodontal inflamatória.

Este pode ser um dado indicativo de que esta enzima é derivada quase que exclusivamente do tecido periodontal. Além disso, a solubilidade da beta hexosaminidase no meio de extração empregado é homogêneo, parecendo não haver enzima latente. Este fato parece demonstrar que as células que contêm beta hexosaminidase recebem estímulos constantes para a produção e liberação da enzima, de acordo com a evolução da placa bacteriana e da doença periodontal inflamatória.

A beta hexosaminidase parece ser a enzima lisossomal que melhor responde à agressão do tecido periodontal, mas, infelizmente, não temos dados na literatura que permitam um melhor estudo comparativo dos nossos resultados. Entretanto, os presentes resultados *in vivo* concordam plenamente com aqueles *in vitro*, realizados com cultura de macrófagos submetidos à estimulação pela placa bacteriana^{11,32}.

A fosfatase ácida apresenta uma variação bastante acentuada nos diversos graus da doença periodontal inflamatória, permitindo deduzir que grande parte da enzima pode ser liberada na gengivite provavelmente pela presença³³ e grande atividade de leucócitos polimorfonucleares^{8,17,22,41,47}.

Na periodontite o nível elevado da fosfatase ácida poderia ser devido à grande destruição tecidual, pois células epiteliais^{7,12,17,22,24,39} e fibroblastos^{12,22,24}, por apresentarem atividade desta enzima, ao serem destruídos, poderiam liberá-la. Corroboram os nossos resultados, diversos estudos da fosfatase ácida realizados no decorrer da doença periodontal inflamatória em vários locais, como na saliva^{18,29,50}, na saliva e no sangue³⁶, no soro¹⁹, no sangue¹⁵ e tecidos gengivais^{6,9,14,16,40,49}.

Estas análises levam a supor que a fosfatase ácida realmente tem participação efetiva na destruição tecidual durante a doença periodontal inflamatória.

A aril sulfatase é uma enzima lisossomal altamente específica para o estágio inicial da gengivite.

Este pode ser um dado de relevante importância, pois é bastante difícil do ponto de vista clínico diferenciar o tecido normal da gengivite grau I. Esta poderia ser uma enzima específica para determinar o estágio inicial da doença periodontal inflamatória.

A análise deste resultado está de acordo com Larmas²³ e Payne³³, que observaram leucócitos polimorfonucleares, que invadem o tecido conjuntivo e epitélio junção-

nal nos estágios iniciais da gengivite experimental no homem, que apresentam forte atividade de aril sulfatase em tecidos gengivais inflamados.

Além disso, nossos resultados estão plenamente de acordo com os obtidos por Lamster et al.²⁰ e em parte por Oshrain et al.³⁰, que estudaram a aril sulfatase em fluido gengival durante a progressão da doença periodontal inflamatória.

Um outro fator que chama bastante atenção nos nossos resultados é a análise das Tabelas 1, 2 e 3, em que podemos notar que nem sempre os índices clínicos estiveram de acordo com os índices enzimáticos. Algumas amostras de enzimas com índice de doença periodontal inflamatória incipiente apresentaram índice enzimático elevado, não havendo correlação entre os sinais clínicos e o que ocorre na intimidade dos tecidos.

Estes dados podem estar de acordo com Socranski³⁸, o qual propõe que a doença periodontal inflamatória progride através de surtos agudos periódicos, intercalados por períodos quiescentes. Assim sendo, as áreas de onde foram obtidas as amostras e que foram classificadas com índices clínicos incipientes, mas que apresentavam índices enzimáticos elevados, poderiam estar, no momento da realização da biópsia, passando por um período de agudização.

Os resultados encontrados no presente trabalho demonstram aumento dos níveis enzimáticos durante a doença periodontal inflamatória, provavelmente indicando que estas enzimas podem ter participação efetiva na destruição dos tecidos periodontais durante a instalação e/ou evolução da doença periodontal inflamatória, estando este fato de acordo com o preconizado por Page & Schroeder³¹.

KINA, J. R. et al. The participation of lisossomal enzymes beta hexosaminidase, acid phosphatase and aryl sulfatase during periodontal disease. Rev. Odontol. UNESP, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 191-201, 1992.

■ **ABSTRACT:** For each group we have analysed the content of acid phosphatase, B-hexosaminidase and aryl sulfatase. From analysis of our results, obtained in this study conditions, the following conclusions were withdrawn: The B-hexosaminidase activity has shown a strong tendency to increase following the progression of periodontal inflammatory disease. The aryl sulfatase has shown a tendency to increase the level mainly in the initial phases of gingivitis. The tissue level of three enzymes increase during the periodontal inflammatory disease.

■ **KEYWORDS:** Enzymes; periodontal disease; acid phosphatase; beta hexosaminidase; aryl sulfatase.

Referências bibliográficas

1. ARAUJO, W. C., UZEDA, de M., CARVALHO, de P. M. Aspectos da participação bacteriana na doença periodontal. I – Dinâmica de agressão microbiana. Rev. Bras. Odont., v. 154, p. 350-60, 1968.

2. ATTSTROM, R. Studies on neutrophil polymorphonuclear leukocytes at the dento gingival junction in gingival health and disease. *J. Periodont. Res.*, v. 6 (suppl.8), p. 7-15, 1971.
3. BAHN, A. N. Microbial potential in the etiology of periodontal disease. *J. Periodont.*, v. 41, p. 603-10, 1970.
4. BELLINI, H. T., MOUSTAFA, M. H. Início da inflamação gengival: revisão de literatura. *Rev. Ass. Paul. Cirurg. Dent.*, v. 25, p. 253-7, 1971.
5. CARRANZA Jr., F. A. Estado actual del problema etiologico de la enfermedad periodontal. *Rev. Bras. Odont.*, v. 166, p. 269-74, 1970.
6. CIECIURA, L., JEDRZEJEWSKA, T., CIESLAK, M. et al. Histochemical and biochemical study of patterns of acid phosphatase activity in parodontopathies before and after surgical treatment. *Czas. Stomat.*, v. 23, p. 1245-50, 1970.
7. CORNAZ, A., CIMASONI, G., PATAKI, A. Decrease of acid phosphatase activity in the epithelial cells from inflamed gingivae. *Experientia*, v. 30, p. 143-44, 1974.
8. FRANK, R. M., CIMASONI, G. Electron microscopy of acid phosphatase in the exsudate from inflamed gingiva. *J. Periodont. Res.*, v. 7, p. 213-25, 1972.
9. GIBSON, W. A., BAER, P. N. An unusual manifestation of chronic gingivitis enzyme histochemical findings. *J. Periodont.*, v. 43, p. 26-30, 1972.
10. GUIMARÃES, S. A. C. Fisiopatologia das periodontopatias inflamatórias. I- Placa dental. *Rev. Ass. Paul. Cirurg. Dent.*, v. 28, p. 290-2, 1974.
11. GUIMARÃES, S. A. C., GOMES, A. M. M., GARCIA, R. B. et al. Mecanismo de destruição tecidual induzida pela placa dental na reação inflamatória crônica. II. Estudo *in vitro*. In: REUNIÃO CIENTÍFICA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICAS. 2, Pirassununga, 1985. *Resumos...* Pirassununga, 1985. p. 87.
12. HALACKOVÁ, Z., OUDRÁN, L., KUKLETOVÁ, M. Localization of some enzymes in the periodontium of the rat molar. *Acta Histochem.*, v. 67, p. 173-9, 1980.
13. HARROP, P. J., O'GRADY, R. L., KNOX, K. W. et al. Stimulation of lysosomal enzyme release from macrophages by lipoteichoic acid. *J. Periodont. Res.*, v. 15, p. 492-501, 1980.
14. HASEGAWA, K., CIMASONI, G., VUAGNAT, P. Inflamed gingival contain more free lysosomal enzyme. *Experientia*, v. 31, p. 765-6, 1975.
15. JANCZUK, Z., BANACH, J., GREGORCZYK, J. The activity of non specific phosphatases in the blood of patients with periodontal diseases during healing of periodontal wounds. *Czas. Stomat.*, v. 23, p. 1091-6, 1970.
16. JANY, Z., PODHRADSKY, J., LONJAVEROVÁ, Y. et al. Nonspecific acid phosphomonoesterase activity in gingival tissue. *Bratish. Lek. Listy*, v. 69, p. 57-64, 1978.
17. JANY, Z., VELGOS, S., PODHRADSKY, J. et al. Correlation between morphological findings and the activity of acid phosphomonoesterase in the tissue of the marginal gingiva. *Cesk. Stomat.*, v. 79, p. 287-93, 1979.
18. JEDRZEJEWSKA, T., CIECIURA, L., CIESLAK, M. et al. The activity of acid and alkaline phosphatases and the concentration of inorganic phosphates, calcium and magnesium

in the serum in paradontal diseases and in the course of their treatment. *Czas. Stomat.*, v. 23, p. 901-8, 1970.

19. JEDRZEJEWSKA, T., CIECIURA, L., CIESLAK, M. et al. Acid and alkaline phosphatase activity and concentration of inorganic phosphorus, calcium, and magnesium in the saliva in parodontopathies and during their treatment. *Czas. Stomat.*, v. 23, p. 1233-38, 1970.
20. LAMSTER, I. B., VOGEL, R. I., HARTLEY, L. J. et al. Lactate dehydrogenase, B. glucuronidase and arylsulfatase activity in gingival crevicular fluid associated with experimental gingivitis in man. *J. Periodont.*, v. 56, p. 139-47, 1985.
21. LANGE, D. E., SCHROEDER, H. E. Structural localization of lysosomal enzymes in gingival sulcus cells. *J. Dent. Res.*, v. 51 p. 272-8, 1972.
22. LARMAS, L. Distribution of acid phosphatase activity in hydantoin induced hyperplastic, healthy and inflamed human gingiva. *Proc. Finn. Dent. Soc.*, v. 72, p. 109-13, 1976.
23. LARMAS, L. A histochemical study of arylsulfatase activity in healthy, inflamed and hydantoin induced hyperplastic human gingiva. *Proc. Finn. Dent. Soc.*, v. 73, p. 48-52, 1977.
24. LEONARD, E. P. Enzyme histochemistry of periodontal pathogenesis in the rice rat (*Dryomys palustris*). *Cell. Mol. Biol.*, v. 24, p. 241-8, 1979.
25. LOE, H., SILNESS, J. Periodontal disease in pregnancy. I. Prevalence and severity. *Acta Odont. Scand.*, v. 21, p. 533-51, 1963.
26. LOE, H., THEILADE, E., JENSEN, S. B. et al. Experimental gingivitis in man. *J. Periodont.*, v. 36, p. 177-87, 1965.
27. LOW, S. B. Current views on the etiology of periodontal disease: a review of literature. *J. Fla. Dent. Soc.*, v. 50, p. 22-4, 1979.
28. MACEDO, N. L., LACAZ NETTO, R. Potencial patogenético da placa bacteriana: revisão. *Ars Curandi Odont.*, v. 6, p. 4-23, 1979.
29. NAKAMURA, M., SLOTZ, J. Salivary enzymes origin and relationship to periodontal disease. *J. Periodont. Res.*, v. 18, p. 559-69, 1983.
30. OSHRAIN, R. L., LAMSTER, I. B., HARTLEY, L. J. et al. Arylsulphatase activity in human gingival crevicular fluid. *Archs. Oral Biol.*, v. 29, p. 399-402, 1984.
31. PAGE, R. C., SCHROEDER, H. E. Biochemical aspects of the connective tissue alterations in inflammatory gingival and periodontal disease. *Int. Dent. J.*, v. 23, p. 455-69, 1973.
32. PAGE, R. C., DAVIES, P., ALLISON, A. C. Effects of dental plaque on the production and release of lysosomal hydrolases by macrophage in culture. *Archs. Oral Biol.*, v. 18, p. 1481-95, 1973.
33. PAYNE, W. A., PAGE, R. C., OGILVIE, A. L. et al. Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. *J. Periodont. Res.*, v. 10, p. 51-64, 1975.
34. RAMFJORD, S. P. Indexes for prevalence and incidence of periodontal disease. *J. Periodont.*, v. 30, p. 51-9, 1959.

35. RAMFJORD, S. P., NISSLE, R. R. The modified Widman flap. *J. Periodont.*, v. 45, p. 601-7, 1974.
36. SMOLYAR, N. I., KOVALYUK, I. S. Activity of salivary and blood phosphatases in periodontal disease. *Stomatologïa*, v. 53, p. 25-6, 1974.
37. SOCRANSKY, S. S. Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. *J. Dent. Res.*, v. 49, p. 203-22, 1970. Supplement 2.
38. SOCRANSKY, S. S. et al. New concepts of destructive periodontal disease. *J. Clin. Periodont.*, v. 11, p. 21-32, 1984.
39. SQUIER, C. A., MATERHOUSE, J. P. The lysosomes in oral epithelium: the ultrastructural localization of acid phosphatase and non specific esterase in keratinized oral epithelium in man and rat. *Archs. Oral Biol.*, v. 15, p. 153-68, 1970.
40. STAMBOLIEVA, E., BURKOVA, T. Some enzymohistochemical and enzymeelectrophoretic studies of the periodontium in periodontosis. *Stomatologïa*, v. 48, p. 22-5, 1969.
41. SUEDA, T., CIMASONI, G. The origins of acid phosphatase in human gingival fluid. *Archs. Oral Biol.*, v. 13, p. 553-8, 1968.
42. TAGA, E. M. *Fosfatase ácida de fígado de Cobaia (Cavia porcellus - Linnaeus, 1758): purificação, estudos eletroforéticos e algumas propriedades.* São Paulo, 1979. Tese (Mestrado) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo.
43. TAGA, E. M. Structural and chemical characterization of a homogeneous peptide N-glycosidase form almond. *Biochemistry*, v. 23, p. 815-22, 1985.
44. TAICHMAN, N. S. Mediation of inflammation by the polymorphonuclear leukocytes as a sequela of immune reactions. *J. Periodont.*, v. 41, p. 228-31, 1970.
45. TAICHMAN, N. S., FREEDMAN, H. L., URIUHARA, T. Inflammation and tissue injury the response to intradermal injections of human dento gingival plaque in normal and leukopenic rabbits. *Archs. Oral Biol.*, v. 19, p. 1385-92, 1966.
46. THEILADE, E., WRIGHT, W. H., BORGLUM, S. et al. Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J. Periodont. Res.*, v. 1, p. 1-13, 1966.
47. TYNELIUS, B., ATTSTRON, R. J. Acid phosphatase, hyaluronidase, and protease in crevices of healthy and chronically inflamed gingiva in dogs. *J. Dent. Res.*, v. 51, p. 279-83, 1972.
48. WAHEED, A. & VAN ETEN, R. L. The monomer-dimer association of rabbits liver aryl sulfatase A and its relationship to the anomalous linetes. *Arch. Biochem.*, v. 194, p. 215-25, 1979.
49. WINER, R. A., O'DONNELL, L. J., CHAUNCEY, H. H. et al. Enzyme activity in periodontal disease. *J. Periodont.*, v. 41, p. 449-56, 1970.
50. WITEK, E. Acid phosphatase activity in saliva in relation to changes in periodontium. *Czas. Stomatol.*, v. 23, p. 1227-32, 1970.

Recebido em 3.12.1991.