

## **A participação das metaloproteinases da matriz nos processos fisiopatológicos da cavidade bucal**

**Valéria Pontelli NAVARRO<sup>a</sup>, Paulo NELSON-FILHO<sup>b</sup>, Léa Assed Bezerra SILVA<sup>b</sup>,  
Aldevina Campos FREITAS<sup>b</sup>**

<sup>a</sup>*Doutoranda em Odontopediatria, Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social, Faculdade de Odontologia, USP, 14040-904 Ribeirão Preto - SP, Brasil*

<sup>b</sup>*Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social, Faculdade de Odontologia, USP, 14040-904 Ribeirão Preto - SP, Brasil*

Navarro VP, Nelson-Filho P, Silva LAB, Freitas AC. The participation of matrix metalloproteinases in the physiopathological processes of the oral cavity. Rev Odontol UNESP. 2006; 35(4): 233-38.

**Resumo:** Metaloproteinases da Matriz (MMPs) são um importante grupo de enzimas proteolíticas zinco-dependentes responsáveis pela degradação de matriz extracelular e membranas basais. As enzimas são secretadas em uma forma latente e se tornam ativadas no ambiente pericelular, sendo relacionadas a processos fisiológicos e patológicos na área odontológica. No presente estudo, foram revisados alguns aspectos importantes das MMPs, discutindo-se o papel dessas enzimas em processos fisiológicos como o início da mineralização dentinária, a remodelação do colágeno dos tecidos periodontais e o processo de erupção, entre outros. Dentre os processos patológicos que acometem a cavidade bucal e envolvem a participação das MMPs, destacam-se a destruição tecidual periodontal, as lesões de cárie radicular, as metástases em alguns tipos de tumores e as desordens da articulação temporomandibular.

**Palavras-chave:** *Metaloproteinases da matriz; boca.*

**Abstract:** Matrix metalloproteinases (MMPs) are an important group of zinc-dependent proteolytic enzymes that mediate the extracellular matrix and basement membrane degradation. The enzymes are secreted in latent form and become activated in the pericellular environment and have been related with physiological and pathologic oral process. In the present work we review some important aspects of matrix metalloproteinases, and discuss the role of these enzymes in the normal physiological process like the role of MMPs in the beginning of the teeth mineralization, collagen remodeling in the periodontal tissues, eruption process, and others. In the oral pathological processes, we have the periodontal tissue destruction, root caries, metastasis in some kind of tumors and disorders of the temporomandibular joint.

**Keywords:** *Matrix metalloproteinases; mouth.*

## Introdução

As Metaloproteinases da Matriz (MMPs) constituem-se de um grupo de enzimas (endopeptidases) responsáveis pela degradação dos componentes da matriz extracelular (MEC) e das membranas basais. Adescoberta das MMPs provavelmente ocorreu no ano de 1962, quando Gross, Lapière<sup>8</sup> encontraram uma enzima ativa na cultura de fragmentos da pele de ratos, a qual degradou a tripla hélice do colágeno tipo I maduro. Atualmente inúmeros trabalhos vêm se desenvolvendo a fim de elucidar e aprimorar o conhecimento sobre as MMPs.

As MMPs degradam as macromoléculas da matriz, incluindo o colágeno intersticial, a fibronectina, a laminina e a proteoglicana, entre outras<sup>4,20</sup>. Coletivamente, as MMPs são capazes de degradar todas as proteínas componentes da matriz extracelular e das membranas basais<sup>4</sup>.

Atualmente, mais de 20 tipos diferentes de MMPs humanas foram identificadas<sup>1,14,25</sup>, as quais são classificadas em 5 grandes grupos de acordo com a especificidade do substrato e a sua homologia interna: colagenases, gelatinases, estromelisinases, tipo-membrana e outras, incluindo a matrilisina. As principais MMPs, relacionando seu número e natureza do substrato específico, estão resumidas na Tabela 1.

As MMPs são secretadas na forma de proenzimas inativas, denominadas zimógenos, que são ativadas no ambiente pericelular dos tecidos por segmentação de uma parte dos zimógenos denominada propeptídeo, ou seja, por quebra de uma ligação de cisteína  $Zn^{++}$  que bloqueia a reatividade do local ativo. Este processo faz com que os zimógenos (inativos) se tornem MMPs (ativas). Isso tem sido largamente

descrito para os animais vertebrados, porém também ocorre em plantas, animais de pequeno porte e bactérias<sup>14</sup>.

As principais células que produzem MMPs são os leucócitos polimorfonucleares, os queratinócitos, os monócitos, os macrófagos, os fibroblastos e as células mesenquimais. Essas células são capazes de responder a fatores de crescimento e citocinas, incluindo a Interleucina 1 (IL-1), a TNF- $\alpha$  e a TGF- $\alpha$ . Na presença desses fatores de crescimento e citocinas, essas células liberam as MMPs de grânulos específicos de armazenamento para o meio extracelular<sup>4</sup>.

De acordo com a literatura, diferentes tipos de células expressam diferentes complementos de MMPs, diferentes citocinas levam a diferentes efeitos transcricionais no mesmo tipo de célula e diferentes tipos de células não agem necessariamente da mesma forma em resposta à mesma citocina<sup>4</sup>.

Todas as MMPs contêm íons  $Zn^{++}$  no sítio de ação catalítica e requerem íons  $Ca^{++}$  para sua estabilidade e atividade, sendo, por isso, denominadas enzimas metal-dependentes<sup>4,20</sup>.

Segundo Birkedal-Hansen<sup>4</sup>, a atividade das MMPs no substrato da matriz extracelular é regulada por quatro vias: 1) por regulação na transcrição nos genes das MMPs; 2) por ativação de precursores; 3) por diferenças de especificidade de substrato; e 4) por inibidores de MMPs.

Os genes promotores são regiões que controlam a transcrição dos genes que codificam a síntese de MMPs. Recentemente, polimorfismos de DNA têm sido encontrados na região promotora de várias MMPs. O polimorfismo representa seqüências variantes naturais (alelos), que podem

**Tabela 1.** Principais metaloproteinases da matriz<sup>25</sup>

Enzima	Número	Substrato específico
Intersticial		Colágeno helicoidal, proMMP-2
Colagenase	MMP-1	proMMP-9
Neutrófil colagenase	MMP-8	Colágeno helicoidal
Colagenase-3	MMP-13	Colágeno helicoidal
Geletinase A	MMP-2	proMMP-9, fibronectina
Gelatinase B	MMP-9	Gelatin, fibronectina, elastina, colágeno IV, V, VII, X e colágeno tipo I desnaturado
Estromelisinase-1	MMP-3	Fibronectina, laminina, elastina, proteoglicana, colágeno VI, V, IX, X, proMMPs -1, -7, -8, -9, -13
Estromelisinase-2	MMP-10	Fibronectina, laminina, elastina, proteoglicana, colágeno IV, V, IX, X
MT1-MMP	MMP-14	proMMP-2, -13, colágeno helicoidal
MT2-MMP	MMP-15	
MT3-MMP	MMP-16	proMMP-2
MT4-MMP	MMP-17	
Matrilisina	MMP-7	Fibronectina, elastina, colágeno IV
Metaloelastase	MMP-12	Elastina
Enamelisina	MMP-20	Matriz do esmalte dental

ocorrer com mais de uma forma, em uma frequência maior que 1% na população humana<sup>20</sup>.

A atividade das MMPs são controladas também por meio dos inibidores específicos, conhecidos como inibidores teciduais de MMPs (TIMPs). As TIMPs são proteínas pequenas e multifuncionais que regulam ambas as funções das MMPs, o nível de sua ativação e sua habilidade de hidrolisar um determinado substrato<sup>4,20</sup>.

O equilíbrio entre a produção de MMPs e a de TIMPs representa um ponto principal para manter a homeostase da matriz extracelular. É conhecido que um processo patológico da matriz extracelular pode se instalar quando houver excesso de atividade das MMPs nos tecidos. Por essa razão, há um grande interesse em desenvolver inibidores sintéticos das MMPs que possam ser usados em terapias médicas e odontológicas. Uma maior atenção tem sido dada para os agentes quelantes do zinco<sup>20</sup>.

### **Inibidores de MMPs na medicina e na odontologia**

Na área médica, sabe-se que os sais de ouro são usados no tratamento de artrite, pois o metal do ouro se liga ao lado do metal pesado da MMP, inibindo, dessa forma, o potencial colagenolítico dessas enzimas e, com isso, impedindo a evolução do processo inflamatório e de degradação dos componentes articulares, característico da artrite<sup>9</sup>.

Foi demonstrado também que a tetraciclina inibe a colagenase do fluido gengival e dos tecidos, independente da sua dose. Bezerra et al.<sup>3</sup> avaliaram a redução da reabsorção óssea de origem inflamatória em ratos com o uso de doxiciclina (2,5 mg, 5 mg ou 10 mg.kg<sup>-1</sup> por dia), por 7 dias. Os ratos foram submetidos à colocação de uma ligadura com linha de nylon ao redor dos molares superiores e mortos após 7 dias. A perda óssea alveolar foi medida macroscopicamente e por análise histopatológica. Ratos não tratados com doxiciclina manifestaram significativa perda de osso alveolar, severo influxo de células mononucleares e aumento do número de osteoclastos, que foram significativamente reduzidos com a administração de 5 mg ou 10 mg.kg<sup>-1</sup> por dia de doxiciclina. Esses autores mostraram que a doxiciclina inibe a reabsorção inflamatória do osso, de um modo independente de suas propriedades antimicrobianas, mas através de ação direta da doxiciclina na atividade das células inflamatórias, promovendo apoptose dos osteoclastos.

De modo semelhante, foi demonstrado, também, que a doxiciclina modificada quimicamente (CMT-8), composto que não apresenta atividade antimicrobiana, combinada com cloronato dissódico (um amino bifosfonato que inibe a reabsorção óssea), reduz a perda óssea alveolar em doença periodontal induzida por endotoxina em ratos<sup>10</sup>.

Outros compostos capazes de inibir MMPs são os sais metálicos divalentes, como Zn, Cu, Hg e Sn que inibem a

atividade da MMP-2 e da MMP-9 a baixas concentrações. Cádmio e zinco inibem a atividade das metaloproteinases da matriz do esmalte *in vivo*<sup>18</sup>.

O zinco é largamente empregado na clínica odontológica por ser um importante componente de materiais de uso clínico. Santos et al.<sup>16</sup> avaliaram o efeito do zinco liberado do cimento de óxido de zinco e eugenol (ZOE) na atividade de importantes MMPs gelatinolíticas pulpares. Amostras de polpa foram cultivadas, e a atividade das enzimas secretadas foi analisada por zimografia em tampões condicionados com diversos cimentos à base de ZOE. As MMPs -2 e -9 foram caracterizadas por imunoprecipitação. Todos os cimentos ZOE inibiram a atividade das MMPs acima citadas. O mecanismo de ação do zinco na inibição das MMPs ainda não foi completamente entendido; porém, acredita-se que alguns íons metálicos, como o zinco, interagem com resíduos de aminoácidos causando alterações estruturais que inativam a função catalítica dessas enzimas<sup>18</sup>.

Os sais de zinco também são usados como componentes ativos em dentifrícios e enxaguatórios bucais. Estudos clínicos têm mostrado que os enxaguatórios bucais e os dentifrícios podem reduzir o acúmulo da placa e a formação do cálculo. Os dentifrícios contendo citrato de zinco podem reduzir o desenvolvimento de inflamação gengival em 25%. Portanto, é proposto que o zinco pode melhorar a saúde gengival por inibição direta das MMPs presentes nos tecidos gengivais inflamados<sup>20</sup>.

Grandes quantidades de zinco e cobre são constantemente liberadas pelo amálgama. A liberação contínua de saliva rapidamente remove esses metais da boca, minimizando a interferência com as MMPs presentes na saliva. De qualquer forma, em alguns casos, como na tatuagem de amálgama e na obturação radicular retrógrada, resíduos de amálgama ficam em contato direto com o tecido conjuntivo por períodos prolongados de tempo. A inibição da atividade das MMPs pode ter um efeito local nos tecidos, ao redor desse material<sup>19</sup>.

Souza et al.<sup>19</sup> testaram o efeito dos íons metálicos liberados do amálgama dental sobre as MMPs gelatinolíticas gengivais. Amostras gengivais humanas foram cultivadas, e a atividade das enzimas secretadas foi analisada por zimografia em tampões condicionados com fase dispersa e fase concentrada do amálgama dental. As MMPs -2 e -9 foram as enzimas mais importantes encontradas nas amostras. A atividade proteolítica dessas enzimas foi fortemente inibida pela fase dispersa dos tampões de amálgama condicionados. O tampão de amálgama dental condicionado também inibiu a degradação de colágeno tipo I desnaturado por MMP-2 purificada em amostras da fase líquida. Esses achados sugerem que a atividades das MMPs nos tecidos bucais podem ser moduladas por íons metálicos liberados do amálgama dental. Acredita-se que os íons metálicos interagem com resíduos de aminoácidos, causando mudanças conforma-

cionais que inativam a função catalítica das enzimas. A inibição da atividade das MMPs pode ter um efeito local nos tecidos conjuntivos ao redor do amálgama, e isto pode alterar a formação e a reabsorção dos componentes da matriz extracelular, interferindo na cicatrização e na remodelação dos tecidos ao redor desses materiais<sup>19</sup>.

## Participação das MMPs nos processos fisiológicos e patológicos

A atividade das MMPs tem sido relacionada a importantes doenças, como destruição de articulações nos casos de artrite reumatóide, osteoartrite, aneurisma aórtico abdominal, infarto agudo do miocárdio e câncer. As MMPs também participam de processos de remodelação normais, como no desenvolvimento embriológico, na involução pós-parto do útero, na remodelação óssea, na ovulação e na reparação de feridas.

A função das MMPs tem sido estudada utilizando-se camundongos transgênicos *knockouts* (geneticamente modificados) para MMPs -3, -7, -9 e -12. A dificuldade de se utilizar esse tipo de análise parece ser a alta redundância funcional das MMPs. A ablação de uma MMP particular irá induzir a expressão de outras MMPs para compensar a perda<sup>17,25</sup>.

## MMPs e o ambiente bucal

### *Participação das MMPs na reabsorção óssea*

As MMPs são enzimas que participam ativamente na reabsorção óssea que ocorre na doença periodontal e nas lesões periapicais crônicas. Os osteoblastos expressam FIB-CL (*fibroblast-type collagenase*) (MMP) quando estimulados. Portanto, hipoteticamente, a reabsorção óssea osteoclástica é iniciada por uma resposta osteoblástica a sinais de reabsorção, como a liberação de MMP, resultando em dissolução da camada osteóide não mineralizada, sendo os osteoclastos recrutados para essa região, os quais parecem não produzir MMP.

### *Participação de MMPs em metástases de tumores*

Durante a metástase, as células tumorais produzem MMPs para degradar os tecidos vizinhos, invadindo o estroma local e ultrapassando a membrana basal de um vaso sanguíneo<sup>20</sup>.

De acordo com Pinheiro<sup>15</sup>, entre os fatores que modulam a invasividade local de uma neoplasia estão as MMPs, enzimas capazes de clivar a maioria dos componentes da matriz extracelular. Esse autor verificou, pela técnica de imuno-histoquímica em cortes histológicos de ameloblastoma, a expressão das MMPs -1, -2 e -9 e, por meio de estudo zimográfico em tecidos de ameloblastoma, evidenciou as MMPs -2 e -9 nas suas formas tanto inativa quanto funcionalmente ativa. Verificaram que as MMPs presentes no ameloblastoma podem desempenhar papel importante no processo de invasão local dessa neoplasia.

Em múltiplos carcinomas foi detectada uma intensa expressão de MMPs, que indicam invasão tumoral e metástases. Estudos recentes indicaram que as MMPs estão envolvidas na gênese inicial de tumores, na modulação da proliferação, na apoptose e na angiogênese. A MMP-2, primeiramente, hidrolisa o colágeno do tipo IV, que é um importante componente das membranas basais<sup>6</sup>, e, a partir dessa hidrólise, tem início o processo de invasão tumoral. Em 2004, Lin et al.<sup>11</sup> verificaram um polimorfismo no gene da MMP-2 e associaram esse genótipo com o risco de desenvolvimento do carcinoma oral de células escamosas. Portanto, indivíduos que apresentam o genótipo CC têm duplicado o risco de desenvolver esse carcinoma, quando comparados com genótipos CT ou TT. Esses autores também concluíram que um polimorfismo genético no gene promotor de MMPs é um fator de susceptibilidade para o desenvolvimento de carcinoma de células escamosas orais.

### *MMPs e os processos de mineralização dentária*

As MMPs são necessárias para remover as proteínas da matriz de esmalte durante a sua maturação, resultando em um tecido altamente mineralizado. Várias MMPs são expressas nos tecidos dentais em formação e participam da biomineralização da dentina e do esmalte. A expressão de MMP-2 tem sido detectada na camada de odontoblastos da papila dental e no epitélio do esmalte de germe dentário humano principalmente na fase tardia de campânula do desenvolvimento do germe dentário<sup>7</sup>.

Na odontogênese, a MMP-20 (enamelisina) é produzida durante a deposição da camada de pré-dentina e após a mineralização pelos odontoblastos funcionais. Em humanos é detectada no desenvolvimento do esmalte e é responsável por degradar a proteína amelogenina e o colágeno tipo IV<sup>22,24</sup>.

Fanchon et al.<sup>7</sup> avaliaram o envolvimento das MMPs na formação e na mineralização da dentina utilizando germes dentais de embriões de ratos com 18 dias. Com a utilização de inibidores de MMPs, foi observado um aumento dose-dependente na espessura da camada de pré-dentina e um decréscimo na mineralização da dentina. Esses resultados indicam que as MMPs são fundamentais na formação e na mineralização dos tecidos dentários em ratos, no momento da formação do esmalte e da dentina. De acordo com esses resultados, esses autores concluíram que são importantes nesses processos pelo menos duas gelatinases (MMP-2 e MMP-9), a estromelisina-1 (MMP-3) e a enamelisina (MMP-20).

### *MMPs e a erupção dental*

O desenvolvimento do germe dental está associado a alterações morfológicas e bioquímicas da papila dental e do órgão do esmalte. A expressão e a atividade de enzimas com atividade gelatinolítica de germes dentais de ratos recém-nascidos, de 1 a 15 dias de vida, foram analisadas

pelo método semiquantitativo da transcriptase reversa, pela reação da polimerase em cadeia e por zimografia. Foram encontradas as formas latente e ativa de MMP-2, que aumentaram progressivamente do nascimento até o 15º dia, com uma maior expressão de MMP-2 na região da papila quando comparada ao órgão dental<sup>5</sup>.

Beertsen et al.<sup>2</sup> avaliaram a participação da MT1-MMP, uma metaloproteinase da matriz, essencial para a remodelação do colágeno durante a erupção dental e o desenvolvimento radicular, uma vez que a remodelação do colágeno periodontal é essencial para a erupção dental e para o alongamento radicular. A MT1-MMP é uma metaloproteinase tipo membrana que participa da remodelação das interfaces entre os tecidos moles e os tecidos mineralizados. Com a utilização de camundongos deficientes em MT1-MMP, foi observado que ambos, a erupção e o alongamento radicular, foram severamente inibidos. Foi observada, também, a intensa presença de fagossomos contendo fibras colágenas nos fibroblastos do ligamento periodontal. Esses resultados mostram a importância das MMPs no desenvolvimento dental, uma vez que sua ausência causa inibição do crescimento radicular e da erupção.

#### *MMPs e as desordens temporomandibulares*

Os sinais e os sintomas clínicos das desordens da articulação temporomandibular (ATM) são geralmente não específicos e incluem dor, sons articulares e limitação de movimento, sendo a severidade das desordens de difícil diagnóstico somente por sinais e sintomas clínicos. As moléculas encontradas nos tecidos ou no fluido da articulação podem ser utilizadas como marcadores da doença, e a identificação desses marcadores vem trazendo esclarecimentos sobre a sua patogênese, pois reconhecem os pacientes em estágios precoces da doença. Os marcadores moleculares encontrados na ATM estão focados em componentes cartilagosos. Entre esses marcadores podem ser citadas: citocinas pró-inflamatórias e enzimas que degradam a matriz<sup>12</sup>.

A cartilagem articular da ATM é composta predominantemente por fibrocartilagem, com grande quantidade de fibras colágenas. Portanto, as MMPs exercem um importante papel nas desordens da ATM, uma vez que as enzimas gelatinases (colagenase tipo IV) degradam os colágenos tipo IV, V, VII e a elastina. Além disso, a gelatinase-A (MMP-2) e a gelatinase-B (MMP-9), presentes no côndilo mandibular, participam dos processos inflamatórios<sup>13</sup>.

Mizui et al.<sup>13</sup> avaliaram a presença da MMP-2 no líquido sinovial de pacientes com desordens temporomandibulares por zimografia e encontraram correlações entre as bandas detectadas e os achados radiográficos. Nenhuma forma ativa de MMP-2 foi detectada no grupo controle, e a incidência de MMP-2 ativa foi alta no grupo que apresentava desarranjo interno da articulação e mais alta no grupo que apresentava osteoartrite. Esses resultados evidenciam que a

MMP-2 ativa pode ter um papel significativo na patogênese das desordens da ATM, indicando degeneração do disco e da cartilagem articular.

#### *MMPs e a doença periodontal*

As MMPs são as principais responsáveis pela quebra do colágeno durante a destruição tecidual periodontal. Fibroblastos gengivais, queratinócitos, macrófagos residentes e leucócitos polimorfonucleares são capazes de expressar MMPs -1, -2, -3, -8, -9, citocinas inflamatórias e fatores de crescimento que regulam a transcrição das MMPs. Altos níveis de MMPs nos tecidos periodontais provocam um desequilíbrio entre produção e degradação do colágeno, causando perda de inserção dental. Pacientes com periodontite apresentaram níveis significativamente maiores de MMP-2 e MMP-9 que indivíduos saudáveis, com decréscimo da quantidade de gelatinases após o tratamento periodontal<sup>4</sup>. Polimorfismos na região promotora dos genes para MMP-1 também estão associados com o fenótipo da periodontite crônica severa em pacientes não fumantes<sup>20</sup>.

#### *Outras considerações das MMPs no ambiente bucal*

A ativação das MMPs -2 e -9 também foi demonstrada como tendo uma função fundamental na destruição da dentina por lesões de cárie, principalmente nos casos de lesão da superfície radicular, em que evidências indicam que as MMPs são necessárias para remover a matriz orgânica<sup>21</sup>.

Elevados níveis de MMPs debilitam a cicatrização de feridas, tendo sido demonstrado que aplicações tópicas de óxido de zinco estimulam a cicatrização de feridas agudas e crônicas, pelo fato de o óxido de zinco inibir as MMPs localmente<sup>20</sup>.

MMPs do fluido de sulcos peri-implantes têm sido coletadas de implantes dentais que estão sendo perdidos e de implantes bem fixados. À semelhança dos sítios com periodontite, o fluido do sulco peri-implante de implantes dentais que estão sendo perdidos também contém altos níveis de MMPs. Atualmente, a terapia com inibição das MMPs vem sendo utilizada nas fases iniciais de colocação de implantes dentais, para obtenção de uma melhor inserção destes ao osso alveolar<sup>23</sup>.

## **Conclusão**

As metaloproteinases da matriz estão sendo amplamente estudadas, pois participam de um grande número de processos fisiológicos, como os processos de mineralização dentinária, erupção dental e remodelação do colágeno nos tecidos periodontais, entre outros. No metabolismo humano, participam também de processos patológicos como a destruição tecidual periodontal, lesões de cárie radicular, desordens da articulação temporomandibular e metástases em tumores.

O conhecimento das MMPs presentes nas diversas patologias médicas e odontológicas tem permitido sua utilização

como marcadores possibilitando, assim, a confirmação do diagnóstico e fazendo com que este seja efetuado precocemente. Há um interesse crescente no desenvolvimento de pesquisas de inibidores biológicos de MMPs que possam ser utilizados com sucesso e segurança na clínica odontológica.

No entanto, testes utilizando as MMPs e seus inibidores teciduais ainda se encontram em fases iniciais de desenvolvimento, havendo necessidade de pesquisas adicionais para elucidar e aprimorar o conhecimento sobre as MMPs. Deste modo, será possível ampliar sua utilização, melhorando o custo/benefício para o diagnóstico e o monitoramento das terapias nos pacientes.

## Referências

- Bartlett JD, Simmer JP, Xue J, Margolis HC, Moreno EC. Molecular cloning and mRNA tissue distribution of a novel matrix metalloproteinase isolated from porcine enamel organ. *Gene*. 1996; 183: 123-8.
- Beertsen W, Holmbeck K, Niehof A, Bianco P, Christovergis K, Birkedal-Hansen H, et al. On the role of MT1-MMP, a matrix metalloproteinase essencial to collagen remodeling, in murine molar eruption and root growth. *Eur J Oral Sci*. 2002; 110: 445-51.
- Bezerra MM, Brito GAC, Ribeiro RA, Rocha FAC. Low-dose doxycycline prevents inflammatory boneresorption in rats. *Braz J Med Biol Res*. 2002; 35: 613-6.
- Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol*. 1993; 64: 474-84.
- Cotrim P, Andrade CR, Line S, Almeida OP, Coletta RD. Expression and activity of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in the development of rat first molar tooth germ. *Braz Dent J*. 2002; 13: 2.
- Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Cancer*. 2002; 2: 161-74.
- Fanchon S, Bourd K, Septier D, Everts V, Beertsen W, Menashi S, et al. Involvement of matrix metalloproteinases in the onset of dentin mineralization. *Eur J Oral Sci*. 2004; 112: 171-6.
- Gross J, Lapière CM. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci*. 1962; 54: 1197-204.
- Konttinen YT, Ceponis A, Takagi M. New collagenolytic enzymes/cascade identified at the pannus-hard tissue junction in rheumatoid arthritis: destruction from above. *Matrix Biol*. 1998; 17: 585-601.
- Liavaneras A, Ramamurthy NS, Heikkila P, Tereonen O, Salo T, Rifkin BR, et al. A combination of a chemically modified doxycycline and a bisphosphonate synergistically inhibits endotoxin-induced periodontal breakdown in rats. *J Periodontol*. 2001; 72: 1069-77.
- Lin SC, Lo SS, Liu CJ, Chung MY, Huang JW, Chang KW. Functional genotype in matrix metalloproteinase-2 promoter is a risk factor for oral carcinogenesis. *J Oral Pathol Med*. 2004; 33: 405-9.
- Matrisian LM. Metalloproteinases and their inhibitors in matrix remodeling. *Trends Genet*. 1990; 6: 121-5.
- Mizui T, Ishimaru JI, Miyamoto K, Kurita K. Matrix metalloproteinase-2 in synovial lavage fluid of patients with disorders of the temporomandibular joint. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2001; 39: 310-4.
- Murphy G, Knauper V. Relating matrix metalloproteinase structure to function: Why the hemopexin domain? *Matrix Biol*. 1997; 15: 511-8.
- Pinheiro JJV. Estudo imuno-histoquímico e zimográfico das metaloproteinases da matriz 1, 2 e 9 no ameloblastoma/immunohistochemical and zymographic study of matrix metalloproteinases 1,2 and 9 in ameloblastoma [Monografia para obtenção do grau de Doutor]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2002.
- Santos MCLG, Souza AP, Gerlach RF, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, Line SRP. Inhibition of human pulpal gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by zinc oxide cements. *J Oral Rehabil*. 2004; 31: 660-4.
- Shapiro SD. Mighty mice: transgenic technology “knoch out” questions of matrix metalloproteinase function. *Matrix Biol*. 1997; 15: 527-33.
- Souza AP, Gerlach RF, Line SRP. Inhibition of human gingival gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by metal salts. *Dent Mater*. 2000; 16: 103-8.
- Souza AP, Gerlach RF, Line SRP. Inhibition of human gelatinases by metals released from dental amalgam. *Biomaterials*. 2001; 22: 2025-30.
- Souza AP, Line SRP. The biology of matrix metalloproteinases. *Rev Fac Odontol Bauru*. 2002; 10(1):1-6.
- Souza AP, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM, Brito RBJ, Line SRP. MMP- promoter polymorphism: association with chronic periodontitis severity in a Brazilian population. *J Clin Periodontol*. 2003; 202-4.
- Takata T, Zhao M, Uchida T, Wang T, Aoki T, Bartlett JD. Immunohistochemical detection and distribution of enamelysin (MMP-20) in human odontogenic tumors. *J Dent Res*. 2000; 79: 1608-13.
- Teronen O, Konttinen YT, Lindqvist C, Salo T, Ingman T, Lauhio A, et al. Human neutrophil collagenase MMP-8 in peri-implant sulcus fluid and its inhibition by clodronate. *J Dent Res*. 1997; 76: 1529-37.
- Vaananen A, Tjaderhane L, Eklund L, Heljasvaara R, Pihlajaniemi T, Helva R, et al. Expression of collagen XVIII and MMP-20 in developing teeth and odontogenic tumors. *Matrix Biol*. 2004; 23: 153-61.
- Woessner JF Jr. The matrix metalloproteinase family. In: Mechan RP, Parks WC, editors. *Matrix metalloproteinase*. New York: Academic; 1998. p. 1-14.