

# Enzimas do hospedeiro no fluido gengival como potenciais indicadores de atividade de doença periodontal

Claudia Monteiro de Carvalho Perrone de OLIVEIRA<sup>1</sup>  
Urbino da Rocha TUNES<sup>2</sup>  
Sylvia Maria Bastos CORREIA<sup>3</sup>

## RESUMO

**Palavras-chave:** Enzimas, diagnóstico periodontal, fluido gengival.

A patogênese das periodontites está associada à produção de várias enzimas, liberadas por células conjuntivas, epiteliais ou inflamatórias, e a análise bioquímica do fluido gengival oferece um método não invasivo de detectá-las. Estudos que correlacionam essas enzimas com atividade de doença periodontal foram revisados, enfocando as enzimas proteolíticas e hidrolíticas oriundas de células inflamatórias e os potenciais marcadores de morte celular.

Data de recebimento: 7-11-2000  
Data de aceite: 31-5-2001

<sup>1</sup> Especialista em Periodontia pela E.A.P./ABO-Ba.

<sup>2</sup> Professor titular de Periodontia da Escola Baiana de Odontologia - F.D.C.

<sup>3</sup> Professora adjunta da Escola Baiana de Odontologia - F.D.C.

## INTRODUÇÃO

Historicamente, as doenças periodontais têm sido diagnosticadas e as necessidades de tratamento determinadas com base na mensuração de suas seqüelas. Embora tenha valor discriminatório quanto à ausência da patologia, a utilização de parâmetros clínicos isoladamente não confere nenhuma previsibilidade no que diz respeito à progressão da doença, representando apenas o resultado da perda de inserção acumulada.

A análise bioquímica dos constituintes do fluido crevicular gengival tem atraído grande interesse dos pesquisadores no intuito de desenvolver um teste diagnóstico capaz de identificar e quantificar a progressão da doença. Os principais componentes do fluido gengival passíveis de serem utilizados como marcadores para diagnóstico de atividade de doença periodontal são: bactérias subgengivais e seus produtos, mediadores inflamatórios e imunes, enzimas hidrolíticas e proteolíticas liberadas por células inflamatórias, enzimas liberadas por morte celular e produtos da degeneração tecidual. Esta revisão se restringirá às enzimas do hospedeiro presentes no fluido gengival, avaliando o seu potencial como biomarcadores de atividade de doença periodontal em testes diagnósticos.

## REVISÃO DE LITERATURA

### ENZIMAS PROTEOLÍTICAS

#### Colagenase

As colagenases são endopeptidases dependentes de íons zinco, que agem em pH, temperatura e osmolaridade fisiológicos

para clivar a região de tripla hélice do colágeno intersticial (McCulloch, 1994). Essas enzimas são membros da família das metaloproteinases, sendo em número de três: a MMP-1, sintetizada por fibroblastos, células epiteliais e macrófagos; a MMP-8, liberada por neutrófilos; e a MMP-13, que demonstrou recentemente ser produzida por células epiteliais e mesenquimais nos tecidos conjuntivos inflamados e em remodelação, e em sítios durante a cicatrização (Romanelli et al., 1999). A regulação da colagenase é um processo complexo, envolvendo síntese, secreção na sua forma latente, ativação proteolítica por enzimas, como a plasmina tecidual, e inibição enzimática através das moléculas inibidoras teciduais das metaloproteinases (TIMPs) e  $\alpha$ -2 macroglobulina (Page, 1992).

Em periodontite induzida por ligadura em cães, os níveis de colagenase foram correlacionados com perda de inserção periodontal, havendo predominância da enzima latente e seus inibidores em sítios com gengivite e saudáveis (Kryshtalskyj & Sodek, 1987). Em humanos, houve uma correlação positiva entre a concentração da colagenase ativa e a severidade da doença (Villela et al., 1987). Observou-se redução substancial dos seus níveis após terapia (Larivée et al., 1986).

Um estudo longitudinal conduzido por Lee et al., em 1995, demonstrou uma elevação na concentração da enzima latente, que atingiu o dobro em indivíduos com inflamação, mas sem perda óssea, comparando-se àqueles com lesões progressivas. Esses últimos atingiram cinco a seis vezes a concentração da enzima

ativa em relação aos demais. Em sítios com periodontite refratária de fumantes, observou-se uma correlação significativa entre profundidade de sondagem e níveis de colagenase (Söder, 1999).

#### Elastase

A elastase é uma endopeptidase serina produzida no tecido gengival por neutrófilos, sendo armazenada nos grânulos azurófilos dessas células na sua forma inativa, provavelmente ligada a inibidores como o  $\alpha$ 1-inibidor de proteinase e  $\alpha$ 2-macroglobulina (McCulloch, 1994). A elastase de neutrófilos exibe atividade proteolítica sobre vários substratos além da elastina, incluindo colágeno e proteoglicanas (Palcanis et al., 1992). Ela também pode ativar a colagenase latente, pois as colagenases são incapazes de degradar colágeno até que a região do peptídeo terminal da molécula seja primeiro clivada, e essa função pode ser exercida pela elastase (Eley & Cox, 1998).

Os níveis dessa enzima correlacionam-se significativamente com parâmetros clínicos da periodontite, assim como seus níveis reduzem-se após terapia, atingindo nível zero ou muito baixos em sítios saudáveis (Eley & Cox, 1993). Níveis elevados foram também observados em sítios refratários, quando comparados a sítios que responderam à terapia (Jin et al., 1995), e em sítios de fumantes quando comparados a não fumantes (Söder, 1999), a despeito de inflamação gengival e destruição periodontal similares.

Utilizando um teste do tipo "chairside" a fim de avaliar a habilidade previsora para perda de inserção da elastase no fluido gengival, Palcanis et al. (1992) e

Armitage et al. (1994) concluíram que o nível total de elastase foi significativamente mais elevado em sítios com periodontite progressiva versus sítios quiescentes. Eley & Cox (1996a) detectaram níveis bem acima dos valores críticos para concentração e atividade total da elastase em sítios com perda de inserção rápida em relação a sítios controles nos mesmos pacientes, inclusive em período previsor, três meses antes.

### **Catepsinas B e L**

As catepsinas B e L são uma família de proteases-cisteínas que agem em pH ácido e estão primariamente envolvidas na degradação intracelular, embora, ao serem liberadas no meio externo, possam degradar componentes da matriz extracelular, incluindo colágeno, durante o processo inflamatório, particularmente durante a reabsorção óssea ativa. Essas enzimas estão presentes em fibroblastos, macrófagos e osteoclastos, sendo inibidas pela  $\alpha 2$ -macroglobulina e inibidores teciduais conhecidos como cistatinas (Page, 1992). Eley & Cox (1996b) correlacionaram positivamente níveis de catepsina B e atividade de doença periodontal, tanto no momento da perda de inserção como em período previsor.

### **Dipeptidilpeptidases II e IV (DPPs II e IV)**

As DPPs II e IV são enzimas lisossomiais presentes no fluido e tecido gengival, sendo ativas em pH ácido e alcalino, respectivamente. A DPP II está presente em fibroblastos do tecido gengival (Kennett et al., 1996) e em macrófagos no fluido gengival (Lamster et al., 1989). A DPP IV está presente em macrófagos, fibroblastos e linfócitos T (Kennett

et al., 1996), podendo também ser proveniente de *Porphyromonas gingivalis* (Cox & Eley, 1989). Ambas as proteases foram avaliadas em estudo longitudinal por Eley & Cox (1996a), durante dois anos, ao longo dos quais se observou que os níveis de atividade total e concentração das DPPs II e IV nos sítios que perderam inserção foram consideravelmente mais altos e acima de valores considerados críticos, comparados aos grupos controles, no momento em que foi detectada a perda e três meses previamente.

### **Triptase**

A triptase tem sido localizada em mastócitos do tecido gengival associada à heparina, formando um tetrâmero ativo, sendo liberada durante a degranulação dessas células. Sua atividade está presente em larga escala no tecido gengival e de forma reduzida no fluido gengival, quando analisada bioquimicamente (Cox & Eley, 1989). Não existem estudos longitudinais na literatura sobre essa enzima.

## **ENZIMAS HIDROLÍICAS**

### **b-glicuronidase e arilsulfatase**

A b-glicuronidase e a arilsulfatase são enzimas lisossomiais envolvidas na degradação das glicosaminoglicanas, sendo encontradas em leucócitos polimorfonucleares, embora possam também ser liberadas por outros granulócitos e bactérias (McCulloch, 1994). A b-glicuronidase (bG) é uma hidrolase ácida considerada um marcador da liberação primária de grânulos por PMNs, sendo observados dois picos de sua atividade no fluido gengival, o primeiro em pH ácido, representando sua

origem lisossomial; e o segundo, menos pronunciado, em pH neutro, representando sua origem bacteriana (Lamster et al., 1989).

Lamster et al., em 1988, avaliaram pacientes com distintos padrões de progressão da periodontite do adulto, observando um aumento significativo dos níveis de bG no fluido gengival daqueles que sofreram atividade de doença, níveis que alcançaram até quatro vezes a média da população nos pacientes com progressão da doença de padrão localizado. O potencial diagnóstico da arilsulfatase, que também foi incluída nesse estudo, foi considerado baixo.

Esses resultados foram subsequentemente confirmados por dois estudos longitudinais do mesmo grupo de pesquisa (Lamster et al., 1991; Lamster & Grbic, 1995), incluindo um estudo multicentro que examinou a atividade de bG no fluido, por meio de um teste fluorimétrico, indicando que níveis enzimáticos persistentemente elevados estavam associados ao aumento de seis a quatorze vezes no risco para perda de inserção durante o período de monitoração.

### **Fosfatase Ácida e Alcalina**

As fosfatases alcalina e ácida estão entre as enzimas mais comumente associadas ao metabolismo ósseo. Os níveis de fosfatase alcalina, presentes em osteoblastos e neutrófilos, encontram-se frequentemente elevados quando a formação óssea está aumentada, assim como em doenças hepatobiliares e gravidez. A fosfatase ácida está presente em osteoclastos e neutrófilos e é considerada um marcador lisossomial (Binder et al., 1987), embora também possa originar-se de células epiteliais

descamadas, macrófagos e várias bactérias, incluindo *Actinobacillus*, *Capnocytophaga* e *Veillonella*. Níveis elevados de fosfatase ácida no soro são freqüentemente vistos em indivíduos com carcinoma prostático, sendo essa fosfatase utilizada como marcador tumoral (Wingarden et al., 1993).

Binder et al., em 1987, buscaram relacionar níveis de ambas as fosfatases à perda de inserção >2mm, demonstrando que sítios ativos atingiram vinte vezes os níveis médios de fosfatase alcalina encontrados no soro. Utilizando-se o mais favorável valor de corte, 73% dos sítios ativos foram corretamente identificados. A seleção de valores de corte distintos não melhorou a discriminação da fosfatase ácida como teste diagnóstico.

#### **Mieloperoxidase, Lisozima e Lactoferrina**

Mieloperoxidase, lisozima e lactoferrina, encontradas em PMNs, exercem ação antibacteriana, respectivamente, por atuar na geração de íon hipoclorito, por causar lise à parede celular de bactérias e por privar microrganismos do ferro, elemento essencial ao seu metabolismo (Eley & Cox, 1998; McCulloch, 1994).

Os níveis da mieloperoxidase no fluido gengival podem ser medidos espectrofotometricamente e estão mais elevados em sítios periodontais que em controles, reduzindo-se consideravelmente após terapia periodontal, muito embora sua atividade não tenha se correlacionado com índices clínicos de severidade de doença (Smith et al., 1986). A atividade de lisozima e lactoferrina foi quantificada no fluido por imunoelctroforese, resultando em níveis significativamente elevados

de lisozima em pacientes com PJI quando comparados àqueles com periodontite do adulto e gengivite. Os níveis de lactoferrina não diferiram entre as três formas de doença periodontal (Friedman et al., 1983).

### **ENZIMAS LIBERADAS POR MORTE CELULAR**

#### **Aspartato Aminotransferase (AST)**

A aspartato aminotransferase (AST) é uma enzima citoplasmática solúvel liberada no espaço extracelular por células em mecanismo de morte celular, fenômeno integral e essencial à destruição dos tecidos periodontais. Sua determinação no soro, fluido cérebro-espinhal e líquido sinovial tem sido usada há muitos anos na Medicina como indicador de morte celular e necrose tecidual em doenças como infarto do miocárdio (Campos Jr. et al., 1999; Chambers et al., 1991; McCulloch, 1994).

Em cães, os níveis de AST no fluido gengival elevaram-se significativamente durante o desenvolvimento de periodontite induzida por ligadura (Chambers et al., 1984). Persson et al. (1990), em estudo longitudinal em humanos, demonstraram que sítios com perda de inserção confirmada atingiram, em média, 725 unidades de AST acima dos sítios estáveis. Valores máximos enzimáticos foram também associados à inflamação severa, com valores ~600 unidades acima dos encontrados para os sítios com moderada ou nenhuma inflamação. Subseqüentemente, Chambers et al., em 1991, sugeriram uma forte correlação entre os níveis de AST e perda de inserção periodontal, embora esclarecessem

que associações similares dessa enzima em sítios com inflamação pudessem também ocorrer.

Os dados obtidos por Persson & Page, em 1992, subsidiaram a escolha de AST 800mIU como o mais apropriado ponto de corte para distinguir sítios em risco de futura perda de inserção daqueles inativos. Um estudo multicentro, no ano seguinte, avaliou a associação de um teste tipo "chairside" mensurando os níveis de AST no fluido gengival e outras medidas clínicas da doença, antes e após terapia periodontal. A porcentagem de sítios AST positivos, atestada por teste colorimétrico dicotômico, foi significativamente reduzida pós-tratamento para pacientes nos três centros (Persson et al., 1995).

#### **Desidrogenase Láctica**

Assim como a AST, a desidrogenase láctica é uma enzima citoplasmática solúvel liberada durante o processo de morte celular. Um estudo longitudinal, conduzido por Lamster et al. (1988), concluiu não haver correlação significativa entre atividade de LDH persistentemente elevada e sítios com perda de inserção.

No Quadro 1, apresenta-se uma síntese dos estudos relacionando as enzimas do hospedeiro no fluido gengival à atividade de doença periodontal.

### **DISCUSSÃO**

Certos obstáculos necessitam ser ultrapassados até que testes diagnósticos baseados em marcadores enzimáticos participem da rotina da clínica periodontal, detectando a doença incipiente e monitorando fatores de risco que possam predispor pacientes a futuros episódios de destruição. Isso inclui um consen-

Quadro 1 - Estudos relacionando as enzimas do hospedeiro no fluido gengival com a atividade de doença periodontal

ENZIMAS	AUTOR	ANO	DURAÇÃO "GOLD STANDARD" (meses)	SENSIBILIDADE	ESPECIFICIDADE	DEV. PREV. (+) / (-)	
COLAGENASE	LEE et al.	1995	12 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 2mm	-	-	
ELASTASE	PALCANIS et al.	1992	6 meses P.O.R. <sup>3</sup> 0,1mm	P.I.C. <sup>3</sup> 1mm	82%	66%	
	ARMITAGE et al.	1994	6 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 1mm P.O.R. <sup>3</sup> 0,1mm	78%	62%	
	ELEY e COX	1996	24 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 0,85mm P.O.R. <sup>3</sup> 1mm	A.T. / 100% C.E. / 100%	99,9% 99,9%	95,7% / 100% 68,5% / 100%
CATEPSINA B	ELEY e COX	1996	24 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 0,83mm P.O.R. <sup>3</sup> 1mm	A.T. / 100% C.E. / 100%	99,83% 99,75%	86,5% / 100% 81,1% / 100%
DPP II	ELEY e COX	1996	24 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 0,82mm P.O.R. <sup>3</sup> 1mm	A.T. / 100% C.E. / 100%	99,6% 99,3%	71,0% / 100% 60,7% / 100%
DPP IV	ELEY e COX	1996	24 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 0,82mm P.O.R. <sup>3</sup> 1mm	A.T. / 100% C.E. / 100%	99,5% 99,2%	66,2% / 100% 55,0% / 100%
TRIPTASE	-	-	-	-	-	-	
BG	LAMSTER et al.	1988	6 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 2mm	89%	89%	-
	LAMSTER et al.	1991	12 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 2mm	92%	86%	88%
	LAMSTER et al.	1995	6 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 2mm	-	-	-
ARILSULFATASE	LAMSTER et al.	1988	6 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 2mm	56%	74%	-
F. ÁCIDA	BINDER et al.	1987	2 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 2mm	-	-	-
F. ALCALINA	BINDER et al.	1987	2 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 2mm	73%	63%	-
MPO LISOZIMA LACTOFERRINA	-	-	-	-	-	-	
A.S.T.	PERSON et al.	1990	24 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 2mm	-	-	-
	CHAMBERS et al.	1991	24 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 2mm	-	-	-
	PERSON & PAGE	1992	24 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 2mm	93%	68%	-
LDH	LAMSTER et al.	1988	6 meses	P.I.C. <sup>3</sup> 2mm	44%	96%	-

P.I.C. : perda de inserção clínica / P.O.R. : perda óssea radiográfica  
A.T. : atividade total enzimática / C.E. : concentração enzimática

so quanto à técnica para coleta de amostras do fluido gengival, quanto à computação da atividade enzimática (nível total versus concentração) e sobretudo quanto ao "gold standard" ao qual os resultados dos testes são comparados. Níveis distintos de perda de inserção clínica têm sido adotados como valores de corte para progressão da doença, o que afeta a prevalência e o padrão de destruição periodontal, dificultando a comparação entre resultados de pesquisas sobre um mesmo marcador. Por fim, a validação de um teste diagnóstico requer valores aceitáveis de sensibilidade, especificidade e valo-

res previsores, em pesquisas epidemiológicas. Os dois primeiros dados são apresentados pela maioria dos estudos, contudo apenas alguns fornecem valores previsores de grande importância na medida em que consideram a prevalência da doença (Lamster & Grbic, 1995).

Evidências atualmente disponíveis sugerem, como marcadores enzimáticos promissores na detecção da atividade de doença periodontal, a elastase, catepsina B, dipeptidilpeptidases II e IV, b-glicuronidase e AST. Com exceção desta última, as enzimas mencionadas sugerem, em estudos longitudinais, que são

previsoras para a progressão da doença. A habilidade preditora para perda de inserção da elastase tem sido extensivamente pesquisada, assim como a da b-glicuronidase, nos estudos de Lamster et al., o que tem resultado no desenvolvimento de testes do tipo "chairside" envolvendo essas enzimas. Já as enzimas DPP II e IV e a catepsina B, que apresentaram valores de sensibilidade e especificidade próximos a 100% em estudos longitudinais conduzidos por Eley & Cox (1996b), necessitam de novos estudos comprobatórios. A literatura carece de estudos longitudinais relacionando a atividade de

colagenase no fluido com a perda de inserção. Novos testes devem ser específicos para MMP-8, produzida por PMNs, já que a sua forma ativada é a maior responsável pela destruição dos tecidos periodontais. A MMP-1 e a MMP-13, que também contribuem para a atividade enzimática total, parecem estar associadas ao reparo tecidual e à remodelação tecidual durante o curso da doença (Romanelli et al., 1999). A lisozima, lactoferrina e fosfatase ácida não exibiram potencial diagnóstico para perda de inserção; assim como a fosfatase alcalina, que, apesar de manter essa correlação positiva, conferiu ao teste valor preditor baixo (Binder et al., 1987).

O nível de AST no fluido correlacionou-se significativamente com atividade/severidade de doença, embora tenham sido relatadas flutuações na sua atividade, bem como a existência de níveis enzimáticos elevados em sítios com gengivite e sítios periodontais quiescentes (Chambers et al., 1991; Persson & Page, 1992). A desidrogenase láctica apresentou uma baixa sensibilidade, característica também compartilhada pela arilsulfatase, que demonstrou estar mais relacionada com o grau de inflamação dos tecidos (Lamster, 1988).

## CONCLUSÕES

1. Enzimas liberadas por células inflamatórias estão provavelmente associadas à inflamação gengival, presente mesmo na ausência de perda de inserção. É essencial, portanto, que o marcador enzimático demonstre uma associação consistente com atividade de D.P., independentemente da sua relação com inflamação.

2. Dos potenciais marcadores descritos, elastase, catepsina B, DPPs II e IV e bG, parecem demonstrar, longitudinalmente, serem precursores quanto à progressão da doença periodontal, embora valores de sensibilidade, especificidade e valores precursores necessitem ser esclarecidos melhor.

3. AST tem sido correlacionada com atividade/severidade de doença, embora ela mensure a destruição tecidual em dado momento, não estando diretamente associada a eventos celulares ou bioquímicos que conduzem à perda de inserção.

4. Uma estratégia efetiva para identificar pacientes em risco para doença periodontal progressiva seria a associação de testes envolvendo diferentes marcadores.

## ABSTRACT

### HOST ENZYMES IN GINGIVAL CREVICULAR FLUID AS POTENTIAL DIAGNOSTIC INDICATORS OF PERIODONTAL DISEASE ACTIVITY

Periodontitis pathogenesis is associated with the production of a great number of enzymes, released by stromal, epithelial or inflammatory cells, and biochemical analysis of gingival crevicular fluid provides a noninvasive method of their identification. Studies correlating these enzymes with periodontal disease activity are examined, focusing proteolytic and hydrolytic enzymes of inflammatory cell origin and potential markers of cell death.

**Keywords:** Enzymes, periodontal disease diagnostic, gingival crevicular fluid.

## REFERÊNCIAS

- 1 ARMITAGE, G. G. et al. Longitudinal evaluation of elastase as a marker for the progression of periodontitis. *J. Periodontol.*, v. 65, n. 2, p. 120-128, Feb 1994.
- 2 BINDER, T. A.; GOODSON, J. M.; SOCRANSKY, S. S. Gingival fluid levels of acid and alkaline phosphatase. *J. Periodontal Res.*, v. 22, p. 14-19, 1987.
- 3 CAMPOS Jr., A. et al. Diagnóstico clínico das doenças periodontais. In: TUNES, U. R.; RAPP, G. E. **Atualização em periodontia e implantodontia**. São Paulo: Artes Médicas, 1999. p. 85-117.
- 4 CHAMBERS, D. A. et al. Aspartate aminotransferase increases in crevicular fluid during experimental periodontitis in beagle dogs. *J. Periodontol.*, v. 55, n. 9, 1984.
- 5 CHAMBERS, D. A. et al. A longitudinal study of aspartate aminotransferase in human gingival crevicular fluid. *J. Periodontal Res.*, v. 26, p. 65-74, 1991.
- 6 COX, S. W.; ELEY, B. M. Detection of cathepsin B- and L-, elastase-, trypsin-, and dipeptidyl peptidase IV-like activities in crevicular fluid from gingivitis and periodontitis patients with peptidyl derivatives of 7-amino-4-trifluoromethyl coumarin. *J. Periodontal Res.*, v. 24, p. 353-361, 1989.
- 7 ELEY, B. M.; COX, S. W. Gingival crevicular fluid inflammatory cell proteases at healthy, gingivitis and periodontitis sites. *J. Dent. Res.*, v. 72, p. 705, 1993.
- 8 ELEY, B. M.; COX, S. W. A 2-year longitudinal study of elastase in human gingival crevicular fluid and periodontal attachment loss. *J. Clin. Periodontol.*, v. 23, p. 681-692, 1996a.
- 9 ELEY, B. M.; COX, S. W. Correlation between gingivain/

- gingipain and bacterial dipeptidyl peptidase activity in gingival crevicular fluid and periodontal attachment loss in chronic periodontitis patients: a 2-year longitudinal study. **J. Periodontol.**, v. 67, p. 703-716, 1996c.
- 10 ELEY, B. M.; COX, S. W. The relationship between gingival crevicular fluid cathepsin B activity and periodontal attachment loss in chronic periodontitis patients: a 2-year longitudinal study. **J. Periodontol. Res.**, v. 31, p. 381-392, 1996b.
- 11 ELEY, B. M.; COX, S. W. Advances in periodontal diagnosis. 7. Proteolytic and hydrolytic enzymes link with periodontitis. **Brit. Dent. J.**, v. 184, n. 7, p. 323-328, Apr. 1998.
- 12 FRIEDMAN, S. A.; MANDEL, I. D.; HERRERA, M. S. Lysozyme and lactoferrin quantifications in crevicular fluid. **J. Periodontol.**, v. 54, p. 347-350, 1983.
- 13 JIN, L. J. et al. Variations in crevicular fluid elastase levels in periodontitis patients on long-term maintenance. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 103, n. 2 (Pt 1), p. 84-89, 1995.
- 14 KENNETT, C. N.; COX, S. W.; ELEY, B. M. Histochemical and immunocytochemical localization of dipeptidyl peptidases II e IV in human gingiva. **J. Periodontol.**, v. 67, p. 846-852, 1996.
- 15 KRYSHALSKYJ, E.; SODEK, J. Nature of collagenolytic enzyme and inhibitor activities in crevicular fluid from healthy and inflamed periodontal tissues of beagle dogs. **J. Periodontol. Res.**, v. 22, p. 264-269, 1987.
- 16 LAMSTER, I. B. et al. Enzyme activity in crevicular fluid for detection and prediction of clinical attachment loss in patients with chronic adult periodontitis: six months results. **J. Periodontol.**, v. 59, p. 516-523, 1988.
- 17 LAMSTER, I. B. et al. The effect of sequential sampling on crevicular fluid volume and enzyme activity. **J. Clin. Periodontol.**, v. 16, p. 252-258, 1989.
- 18 LAMSTER, I. B. et al. Indicators of the acute inflammatory and humoral immune responses in gingival crevicular fluid: relationship to active periodontal disease. **J. Periodontol. Res.**, v. 26, p. 261-263, 1991.
- 19 LAMSTER, I. B.; GRBIC, J. T. Diagnosis of periodontal disease based on analysis of the host response. In: LAMSTER, I. B. Diagnostic techniques in periodontology. **Periodontology 2000.**, 1995. v.7, 108 p.
- 20 LARIVÉE, J.; SODEK, J.; FERRIER, J. M. Collagenase and collagenase inhibitor activities in crevicular fluid of patients receiving treatment for localized juvenile periodontitis. **J. Periodontol. Res.**, v. 21, p. 702-715, 1986.
- 21 LEE, W. et al. Evidence of a direct relationship between neutrophil collagenase activity and periodontal tissue destruction in vivo: role of active enzyme in human periodontitis. **J. Periodontol. Res.**, v. 30, p. 23-33, 1995.
- 22 McCULLOCH, C. A. G. Host enzymes in gingival crevicular fluid as diagnostic indicators of periodontitis. **J. Clin. Periodontol.**, v. 21, n. 7, p. 497-506, 1994.
- 23 PAGE, R. C. Host response test for diagnosing periodontal diseases. **J. Periodontol.**, v. 63, p. 356-366, 1992.
- 24 PALCANIS, K. G. et al. Elastase as an indicator of periodontal disease progression. **J. Periodontol.**, v. 63, n. 4, p. 237-241, Apr. 1992.
- 25 PERSSON, G. R.; DeROUEN, T. A.; PAGE, R. C. Relationship between gingival crevicular fluid levels of aspartate aminotransferase and active tissue destruction in treated chronic periodontitis patients. **J. Periodontol. Res.**, v. 25, p. 81-87, 1990.
- 26 PERSSON, G. R.; PAGE, R. C. Diagnostic characteristics of crevicular fluid aspartate aminotransferase (AST) levels associated with periodontal disease activity. **J. Clin. Periodontol.**, v. 19, p. 43-48, 1992.
- 27 PERSSON, G. R. et al. A multicenter clinical trial of Periogard™ in distinguishing between diseased and healthy periodontal sites. **J. Clin. Periodontol.**, v. 22, n. 10, p. 794-803, 1995.
- 28 ROMANELLI, R. et al. Activation of neutrophil collagenase in periodontitis. **Infection and Immunity**, v. 67, n. 5, p. 2319-2326, 1999.
- 29 SMITH, Q. T.; HINRICHS, J. E.; MELNYK, R. S. Gingival crevicular fluid myeloperoxidase at periodontal sites. **J. Periodontol. Res.**, v. 21, p. 45-55, 1986.
- 30 SÖDER, B. Neutrophil elastase activity, levels of prostaglandin E-2, and matrix metalloproteinase-8 in refractory periodontitis sites in smokers and non-smokers. **Acta Odontologica Scandinavica**, v. 57, n. 2, p. 77-82, 1999.
- 31 VILLELA, B. et al. Collagenolytic activity in crevicular fluid from patients with chronic adult periodontitis, localized juvenile periodontitis and gingivitis, and from healthy control subjects. **J. Periodontol. Res.**, v. 22, p. 381-389, 1987.
- 32 WINGAARDEN, J. B.; SMITH, L. H.; BENNET, J. C. **Tratado de medicina interna**. 19 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993.

Correspondência para / Reprint requests to:

**Claudia M. de C. Perrone de Oliveira**

Rua Clara Nunes, 414, ap. 701 - Pituba Salvador - BA - 141820-530

Telephone: (71) 2726041

e-mail: cmcpo@svn.com.br